

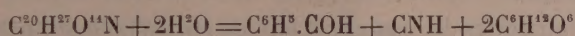
ANNALES DE L'INSTITUT PASTEUR

INFLUENCE DE LA TEMPÉRATURE SUR L'ACTIVITÉ DE L'ÉMULSINE

Par MM. GABRIEL BERTRAND et ARTHUR COMPTON.

On ne connaît pas encore d'une manière définitive la constitution de l'amygdaline, mais on peut déjà considérer ce glucoside comme résultant de l'union du nitrile de l'acide mandélique (ou phénylglycolique) gauche avec un disaccharide analogue au maltose.

Traitée par l'extrait diastasique d'amandes douces ou émulsine, l'amygdaline subit une hydrolyse totale : non seulement le nitrile est séparé, puis décomposé en aldéhyde benzoïque et acide cyanhydrique (1), mais le disaccharide lui-même est scindé en deux molécules de glucose ordinaire.

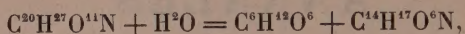


Cette décomposition exige certainement la présence de deux diastases hydrolysantes dans l'émulsine, car elle peut être réalisée en deux temps distincts. Si, en effet, comme l'a montré E. Fischer (2), on fait agir la macération aqueuse de levure sur l'amygdaline, on n'obtient qu'une hydrolyse partielle : une

(1) La décomposition du nitrile, qui s'effectue déjà spontanément au sein de l'eau, serait accélérée, d'après Rosenthaler, par une diastase particulière. *Biochem. Zeit.*, t. XIV, p. 238 (1908) ; t. XVII, p. 257 (1909) ; t. XXVI, pp. 4, 7 et 9 (1910). Voir aussi K. FEIST, *Archiv d. Pharm.*, t. CCXLVII, p. 226 (1909) et t. CCXLVIII, p. 101 (1910).

(2) *Ber. d. chem. Ges.*, t. XXVIII, p. 1308 (1895).

seule molécule de glucose est séparée et il reste du mandélonitrilglucoside :



ce dernier étant séparable, à son tour, par l'extrait d'amandes, en aldéhyde benzoïque, acide cyanhydrique et une seconde molécule de glucose.

En admettant le nom d'*amygdalose* pour le disaccharide engagé dans l'amygdaline et en se conformant à la nomenclature habituelle des diastases, on peut dire que la macération de levure renferme de l'*amygdalase* (1), active seulement vis-à-vis du disaccharide, tandis que l'émulsine contient, en outre, de l'*amygdalinase*, capable de séparer le nitrile de la molécule sucrée.

Les expériences que nous allons décrire concernant l'influence de la température sur l'activité de l'émulsine, ont été faites en tenant compte de cette manière de voir, c'est-à-dire que nous avons toujours mesuré simultanément l'activité de l'amygdalinase en dosant l'acide cyanhydrique et celle de l'amygdalase en déterminant le pouvoir réducteur.

De plus, comme nous avons l'intention de comparer les résultats obtenus avec ceux fournis antérieurement par l'étude de la cellase des amandes (2), nous avons opéré avec la même préparation diastasique — dont nous possédions une réserve suffisante — et, d'autre part, nous avons réalisé des conditions équivalentes de concentration en diastase et en substance hydrolysable.

Ainsi, au cours de nos expériences sur la cellase, nous avons fait réagir le poids de préparation diastasique extraite des amandes douces, qui était capable de dédoubler, après quinze heures d'action à la température optimale, environ 60 p. 100 du cellose, celui-ci étant dissous à raison d'une molécule gramme dans 27 litres 36, soit, pratiquement, de 50 milligrammes dans 4 centimètres cubes.

Nous avons pris, dans chacune des nouvelles expériences, la quantité (1 milligramme) de la même préparation diastasique

(1) Ce nom a d'ailleurs été proposé déjà par Caldwell et Courtauld (*Proc. Roy. Soc.*, t. LXXIX, p. 350, 1907).

(2) *Bulletin Soc. chim.*, 4^e série, t. IX, p. 100 (1911).

qui pouvait, aussi après quinze heures d'action à la température optimale, dédoubler environ 60 p. 100 de l'amygdaline dissoute à la concentration d'une molécule gramme dans 27 lit. 36, soit de 373 milligrammes dans 20 centimètres cubes d'eau.

Le mode opératoire, comme dans nos précédentes expériences, a été le suivant :

La préparation diastasique, en quantité suffisante pour une série d'expériences, en général 10 milligrammes pesés au dixième de milligramme, a d'abord été dissoute dans mille fois son poids d'eau pure, redistillée dans le vide. Une demi-heure après le commencement de cette dissolution, on a prélevé 1 centimètre cube de liquide que l'on a introduit dans un petit matras renfermant 0 gr. 373 d'amygdaline cristallisée et 19 centimètres cubes d'eau pure. Le matras, étant alors bien bouché, a été plongé dans un bain réglé à température convenable.

Un quart d'heure après le premier prélèvement de la solution d'émulsine, on a prélevé un nouveau centimètre cube avec lequel on a préparé un second matras, et, ainsi de suite, de quart d'heure en quart d'heure, jusqu'à ce que le nombre de matras devant former une série ait été atteint.

A partir du moment où le premier matras a été laissé le temps voulu en réaction, on a commencé les analyses. Chaque matras étant examiné un quart d'heure après l'autre, à cause du temps nécessaire au dosage de l'acide cyanhydrique.

Voici comment ce dosage a été fait. On a intercalé successivement chaque matras dans un appareil distillatoire entre une chaudière et un réfrigérant. On a envoyé la vapeur, recueilli le distillat dans un verre à pied contenant 10 centimètres cubes d'ammoniaque, 10 centimètres cubes d'iodure de potassium au centième et quinze gouttes de lessive de soude à 40 p. 100, puis on a titré avec une solution de nitrate d'argent décijnormale, suivant Denigès (1). A la fin de la distillation, on a pris la précaution d'arrêter le courant de réfrigération de manière à ce que la vapeur d'eau, cessant de se condenser, entraîne les dernières traces de CNH restées dans l'atmosphère du réfrigérant. L'opération a été arrêtée aussitôt que la vapeur tendait

(1) *Ann. Chim. Phys.*, 7^e série, t. VI, p. 381 (1893).

à atteindre le mélange à titrer, pour que celui-ci ne s'échauffât pas, ce qui aurait reculé un peu le point de virage.

Les quantités d'acide cyanhydrique ont été calculées en tant pour cent de glucoside dédoublé. Limite d'erreur du dosage : une goutte au plus de solution décimale d'argent, soit 0 milligr. 27 de CNH ou 1,4 p. 100 d'amygdaline.

Le tableau A contient les résultats donnés par l'amygdalinase dans quatre séries d'expériences.

TABLEAU A

TEMPÉRATURES extrêmes de chaque expérience.	P. 100 DE GLUCOSIDE DÉDOUBLÉ EN 15 HEURES d'après L'ACIDE CYANHYDRIQUE			
	1	2	3	4
13°2		17,8	»	»
22°5	32,9	32,9	»	»
30°0	46,6	»	»	»
35°0-35°1				53,4
38°0-38°1		57,6	»	»
38°5-38°4				57,6
38°9-39°0			63,0	»
39°0	61,7	»	»	»
40°2-40°8			57,6	»
41°0-41°2		60,3	»	»
41°5-41°6				54,8
42°0			61,7	»
44°1-44°0			57,6	»
45°0	58,9	»	»	»
46°0-45°9		56,2	»	»
46°3-46°5				52,1
46°5-47°0			54,8	»
47°2-47°5	53,4	»	»	»
50°5-51°2				38,4
51°0-52°0			31,5	»
52°0-55°0		37,0	»	»
53°5-53°2	31,5	»	»	»
57°0-56°8		17,8	»	»
58°5-58°9		12,3	»	»

Ces résultats sont représentés d'une manière plus saisissable par la figure 1, dans laquelle les pourcentages de glucoside dédoublé sont portés en ordonnées et les températures en abscisses.

Le tableau B contient les résultats attribuables, dans les mêmes séries d'expériences, à l'amygdalase. Le pouvoir réducteur du liquide restant dans le ballon après le départ de l'acide

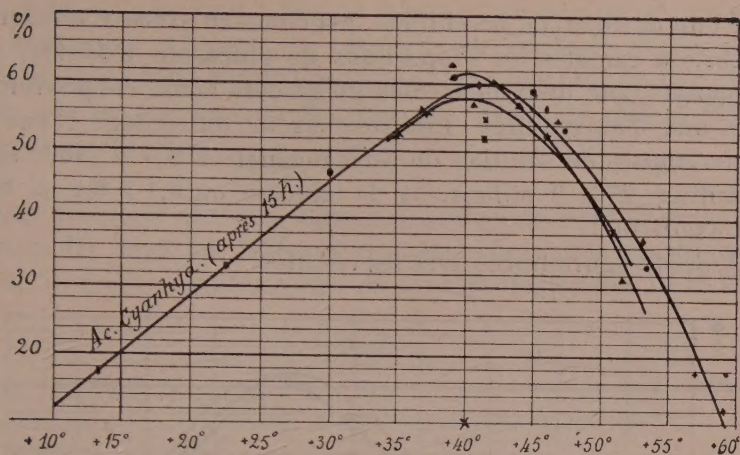


FIG. 1.

TABLEAU B

TEMPÉRATURES extrêmes de chaque expérience.	P. 100 DE GLUCOSIDE DÉDOUBLÉ EN 15 HEURES d'après LE POUVOIR RÉDUCTEUR			
	1	2	3	4
43°2	18,1	»	»
22°5	32,1	34,6	»	»
30°0	49,0	»	»	»
35°0-35°1	54,0
38°0-38°1	59,0	»
38°5-38°4	58,9
38°9-39°0	65,2	»
39°0	62,2	»	»	»
40°2-40°8	67,0	»
41°0-41°2	Manque.	»
41°5-41°6	57,0
42°0	60,1	»
44°1-44°0	57,0	»
45°0	53,8	»	»	»
46°0-45°9	56,5	»
46°3-46°5	50,9
46°5-47°0	51,9	»
47°2-47°5	53,4	»	»
50°5-51°2	35,5
51°0-52°0	34,7	»
52°0-55°0	35,0	»	»
53°5-53°2	29,8	»	»	»
57°0-56°8	16,3	»	»
58°5-58°9	12,2	»	»

cyanhydrique a été déterminé sur une partie aliquote (1/5 du volume ramené à 100) suivant la technique décrite autre part

par l'un de nous (1); les chiffres, exprimés en glucose, ont servi ensuite à calculer les proportions de glucoside dédoublé, en supposant que deux molécules de glucose aient été produites par une d'amygdaline. Limite d'erreur du dosage : une à deux gouttes de solution de permanganate à 0,5 p. 100, soit 0 milligr. 27 à 0 milligr. 54 de glucose ou 0,1 à 0,2 p. 100 d'amygdaline.

Voici la figure tracée avec les résultats :

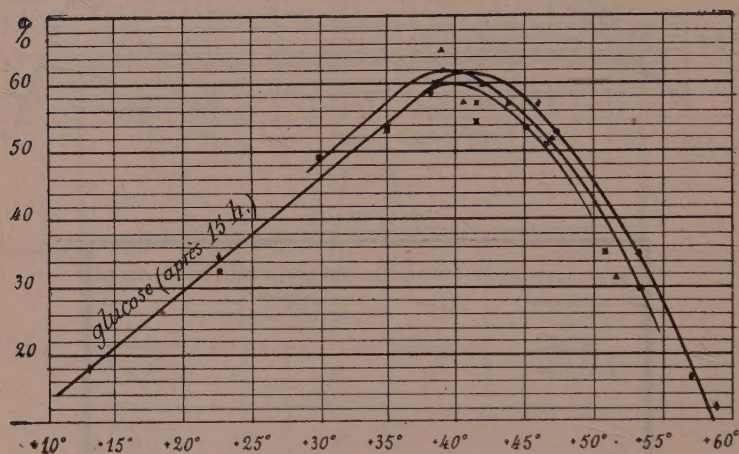


FIG. 2.

L'examen des deux tableaux A et B, ou des deux figures I et II, montre que, dans les conditions où nous nous sommes placés, la température la plus favorable au dédoublement de l'amygdaline par les diastases des amandes douces est située au voisinage de +40 degrés. Nous avons, dans des conditions expérimentales comparables, trouvé +46 degrés environ pour le dédoublement du cellose (2).

Le même examen montre de plus que l'amygdalase et l'amygdalinase se comportent, toujours dans ces conditions spéciales, à peu près de la même manière sous l'influence de la température : aux erreurs près d'expériences, en effet, les chiffres sont identiques et les courbes superposables.

(1) *Bull. Soc. Chim.*, 3^e série, t. XXXV, p. 1285 (1906).

(2) *Bull. Soc. Chim.*, 4^e série, t. IX, p. 400 (1911).

Il n'en est plus tout à fait de même si, au lieu de maintenir 15 heures les mélanges en réaction, on limite la durée des expériences à deux heures (en prenant trois fois plus de diastase, pour que les proportions de glucoside dédoublé restent facilement mesurables).

Les résultats obtenus dans ces nouvelles conditions sont rassemblés dans les tableaux C et D; représentés graphiquement, ils fournissent les séries de courbes des figures III et IV.

TABLEAU C

TEMPÉRATURES EXTRÊMES de chaque expérience.	P. 100 DE GLUCOSIDE DÉDOUBLÉ EN 2 HEURES d'après L'ACIDE CYANHYDRIQUE						
	1	2	3	4	5	6	7
41°8-41°6 . . .	50,7	»	»	»	»	»	»
43°5-43°7 . . .	52,1	»	»	»	»	»	»
46°8-46°0 . . .	54,8	»	»	»	»	»	»
48°6-48°2 . . .	57,6	»	»	»	»	»	»
49°0	60,3	60,3	»	»	»	»	»
49°0-49°2 . . .	60,3	»	»	»	»	»	»
50°8-51°0 . . .	60,3	»	»	»	»	»	»
51°0	64,4	»	»	»	»	»	»
52°8-53°0 . . .	64,4	»	»	»	»	»	»
53°4-53°3 . . .	67,1	»	»	»	»	»	»
54°0	68,5	»	»	»	»	»	»
54°1-54°2 . . .	67,2	»	»	»	»	»	»
55°6-55°5 . . .	68,5	»	»	»	»	»	»
55°7-55°5 . . .	71,3	»	»	»	»	»	»
56°0	69,9	»	»	»	»	»	»
55°8-56°0 . . .	58,9	»	»	»	»	»	»
56°8-57°0 . . .	65,8	»	»	»	»	»	»
57°2	69,9	»	»	»	»	»	»
57°5-57°8 . . .	68,5	»	»	»	»	»	»
57°8	71,3	»	»	»	»	»	»
58°0	60,3	»	»	»	»	»	»
58°1-58°2 . . .	72,7	»	»	»	»	»	»
58°5-59°2 . . .	71,3	»	»	»	»	»	»
58°8-59°0 . . .	58,9	»	»	»	»	»	»
59°1	69,9	»	»	»	»	»	»
59°5	68,5	»	»	»	»	»	»
59°9-60°0 . . .	69,9	»	»	»	»	»	»
60°7-60°8 . . .	52,1	»	»	»	»	»	»
60°8-61°0 . . .	71,3	»	»	»	»	»	»
62°0	64,4	»	»	»	»	»	»
63°8-64°0 . . .	65,8	»	»	»	»	»	»
63°9-64°0 . . .	42,5	»	»	»	»	»	»
65°8-66°0 . . .	60,3	»	»	»	»	»	»
66°9-67°0 . . .	27,4	»	»	»	»	»	»
69°0-69°2 . . .	17,8	»	»	»	»	»	»

TABLEAU D

TEMPÉRATURES extrêmes de chaque expérience.	P. 100 D'AMYGDALINE DÉDOUBLÉ EN 2 HEURES d'après LE POUVOIR RÉDUCTEUR						
	1	2	3	4	5	6	7
41°8-41°6 . . .	54,9	»	»	»	»	»	»
43°5-43°7 . . .	57,4	»	»	»	»	»	»
46°8-46°0 . . .	60,4	»	»	»	»	»	»
48°6-48°2 . . .	61,6	»	»	»	»	»	»
49°0 . . .		66,7	»	»	»	»	»
49°0-49°2 . . .	63,7	»	»	»	»	»	»
50°8-51°0 . . .	63,5	»	»	»	»	»	»
51°0 . . .		68,4	»	»	»	»	»
52°8-53°0 . . .			68,8	»	»	»	»
53°4-53°3 . . .		68,4	»	»	»	»	»
54°0 . . .			69,4	»	»	»	»
54°1-54°2 . . .				69,4	»	»	»
55°6-55°5 . . .				68,4	»	»	»
55°7-55°5 . . .		72,4			»	»	»
56°0 . . .				73,4	»	»	»
55°8-56°0 . . .						61,2	»
56°8-57°0 . . .			68,4	»	»	»	»
57°2 . . .				70,3	»	»	»
57°5-57°8 . . .			70,9	»	»	»	»
57°8 . . .		70,9	»	»	»	»	»
58°0 . . .						59,0	»
58°1-58°2 . . .				69,4	»	»	»
58°5-59°2 . . .		70,3	»	»	»	»	»
58°8-59°0 . . .							60,4
59°1 . . .				68,4	»	»	»
59°5 . . .			69,4	»	»	»	»
59°9-60°0 . . .					68,4	»	»
60°7-60°8 . . .						54,0	»
60°8-61°0 . . .	Manque.						»
62°0 . . .			65,8	»	»	»	»
63°8-64°0 . . .					67,3	»	»
63°9-64°0 . . .						41,4	»
65°8-66°0 . . .					60,4	»	»
66°9-67°0 . . .						26,8	»
69°0-69°2 . . .						16,7	»

Ces nouveaux résultats sont instructifs à comparer soit avec les précédents, soit simplement entre eux.

Dans le premier cas, ils montrent que la température optimale, loin d'être une sorte de constante, comme on l'admet habituellement, varie beaucoup, au contraire, avec la durée des expériences. Ici, l'action destructrice de diastase due à l'élévation de la température étant beaucoup moins marquée que celle due à la prolongation du chauffage, la température optimale se trouve située d'autant plus haut que la durée de l'expérience

est plus courte. Trouvée au voisinage de 56 à 58 degrés après deux heures, elle s'abaisse à 40 degrés environ si on attend 15 heures pour la déterminer.

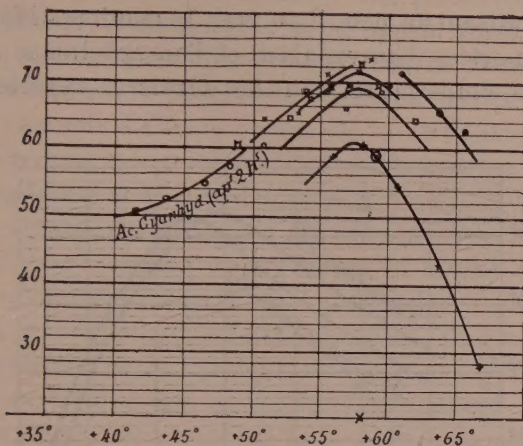


FIG. 3.

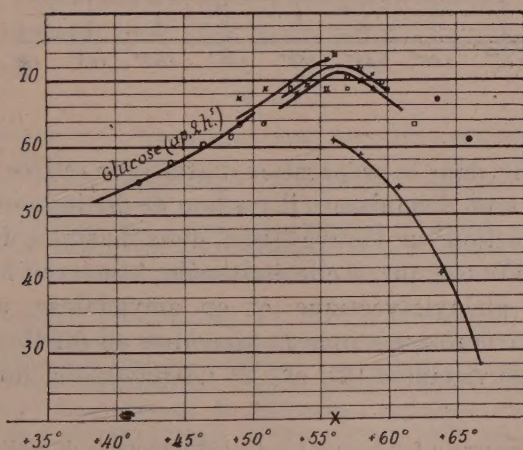


FIG. 4.

La comparaison des derniers résultats entre eux montre, d'autre part, que les courbes de l'amygdalase et de l'amygdalinase, qui étaient sensiblement les mêmes dans les expériences de 15 heures, sont devenues nettement distinctes : la première

présentant un maximum d'activité voisin de $+56$ degrés et la seconde de $+58$ degrés.

La figure V, obtenue après un décallage en hauteur des courbes partielles et une légère retouche d'ensemble (1), fait ressortir, en la schématisant un peu, il est vrai, la manière différente dont se sont comportées l'amygdalase et l'amygdalinase sous l'influence de la température, dans les dernières expériences.

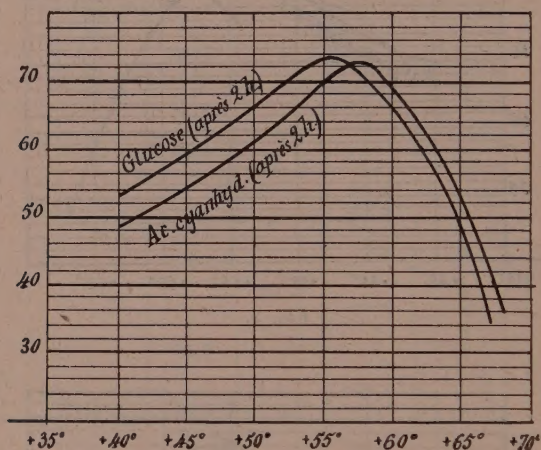


FIG. 5.

En résumé, dans la préparation diastasique retirée des amandes sous le nom d'émulsine, il y a lieu de distinguer, au point de vue de l'action sur l'amygdaline, deux diastases différentes : 1° l'*amygdalinase*, qui, si elle était seule, scinderait la glucoside en nitrile phénylglycolique et en amygdalose, exactement comme la vicianinase scinde la vicianine en nitrile phénylglycolique et en vicianose (2), et : 2° l'*amygdalase*, dont l'action

(1) On remarquera qu'en pesant les dix milligrammes de préparation diastasique nécessaires à l'exécution d'une série d'expériences, une erreur d'un dixième de milligramme correspond déjà à une différence d'un pour cent. Etant donnés l'état pulvérulent de la préparation et ses propriétés hygroscopiques, une différence de plusieurs dixièmes de milligramme est possible d'une pesée à une autre. C'est probablement pour cela, surtout, que les courbes partielles, correspondant à chaque série d'expériences, sont situées à des hauteurs un peu différentes.

(2) Gab. BERTRAND et G. WEISWEILLER, *Bull. Soc. Chim.*, 4^e série, t. IX, p. 38, p. 84 et p. 147 (1911).

hydrolysante est limitée à l'amygdalose comme celle de la vicianase l'est au vicianose (1).

L'amygdalinase et l'amygdalase se comportent à peu près de même sous l'influence de la chaleur ; elles présentent une température optimale d'autant plus haute que la durée de l'expérience faite pour la déterminer est plus courte. Dans une expérience de 15 heures, la température optimale est presque identique pour chacune d'elles et voisine de $+40$ degrés ; dans une expérience de deux heures, cette température monte à $+56$ degrés pour l'amygdalase et à $+58$ degrés pour l'amygdalinase (2).

Dans les conditions où ils ont été obtenus, ces résultats ne fournissent pas seulement un argument en faveur de l'individualité de l'amygdalinase et de l'amygdalase, ils apportent encore une preuve nouvelle de la différence, d'abord si difficile à établir, existant entre ces deux diastases et celle, également contenue dans l'émulsine, qui hydrolyse le cellulose.

Enfin, en se plaçant à un point de vue plus général, ces résultats démontrent de la manière la plus nette que la température optimale, loin d'être une valeur constante, varie beaucoup avec la durée de l'expérience et qu'elle ne saurait servir à caractériser certaines diastases que dans des conditions rigoureusement comparables.

(1) Gab. BERTRAND et G. WEISWEILLER, *Bull. Soc. Chim.*, 4^e série, t. IX, p. 38, p. 84 et p. 147 (1911).

(2) Il est intéressant de rappeler ici qu'en traitant l'amygdaline par l'émulsine, à une température non indiquée, Auld a vu se produire relativement plus de sucre réducteur que d'acide cyanhydrique ou d'aldéhyde benzoïque. En arrêtant l'hydrolyse lorsqu'elle atteignait environ 75 p.100, il a même réussi à isoler un peu de mandélonitrilglucoside (*J. Chem. Soc.*, t. XCIII, p. 1276, 1908).

H. E. ARMSTRONG, E. F. ARMSTRONG et E. HORTON ont observé, d'autre part, en faisant agir l'émulsine sur l'amygdaline à la température constante de $+25^{\circ}$, que l'hydrolyse était généralement plus grande lorsqu'on l'évaluait d'après le pouvoir réducteur que d'après l'acide cyanhydrique. Dans une série particulière d'expériences, la différence a augmenté d'abord avec le temps, puis elle a diminué jusqu'à devenir presque nulle après 25 heures (*Proceedings Roy. Soc.*, t. LXXX, p. 321, 1908).

Ces résultats, qui ont pu être produits en dehors des différences dans les températures optima, par la simple disproportion des diastases présentes, sont au moins d'accord avec les nôtres en ce qui concerne l'existence distincte de l'amygdalase et de l'amygdalinase dans l'émulsine.

L'IMPORTANCE DE LA PHAGOCYTOSE DANS L'IMMUNITÉ DE LA SOURIS

A L'ÉGARD DE QUELQUES FLAGELLÉS

par P. DELANOË

(Avec la Pl. III.)

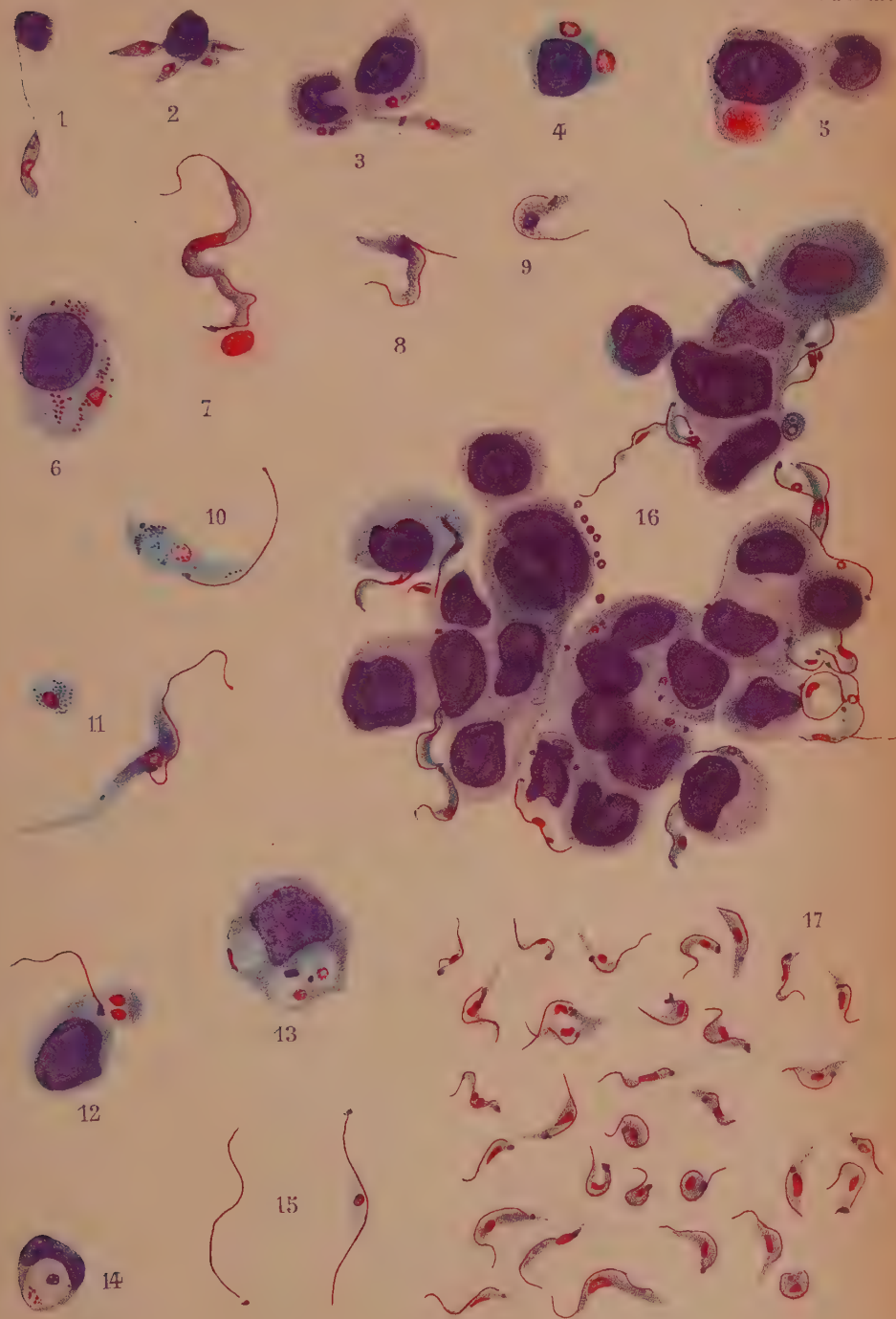
(Travail du laboratoire de M. Mesnil, à l'Institut Pasteur.)

Il y a dix ans que LAVERAN et MESNIL ont, pour la première fois, dans un mémoire publié dans ces *Annales* (1), montré que l'immunité du rat, blanc ou pie, à l'égard du *T. Lewisi KENT*, est uniquement d'ordre phagocytaire.

Chez le rat, activement immunisé, ces deux savants ont montré que la destruction des trypanosomes a lieu dans la cavité péritonéale même, c'est-à-dire au lieu de l'injection, sans que les parasites puissent pénétrer dans la circulation sanguine. En observant en goutte pendante et en frottis colorés le liquide péritonéal d'un rat activement immunisé et récemment inoculé, LAVERAN et MESNIL ont très nettement vu toutes les phases de la phagocytose. Les flagellés, tout en gardant leur pleine mobilité, se piquent sur les phagocytes. Ceux-ci ne tardent pas à réagir et poussent de part et d'autre du parasite deux fins tentacules qui finissent par l'englober en totalité. Le trypanosome, qui, jusqu'à la fin, n'a cessé de se révolter contre la prise du leucocyte, une fois inclus dans le cytoplasme de ce dernier, est très rapidement digéré ; si bien qu'à la coloration, on ne retrouve, la plupart du temps, à l'intérieur des mononucléaires, que des boules irrégulières présentant les réactions de la chromatine et qu'il est possible d'interpréter comme les derniers vestiges de la digestion des trypanosomes.

Chez le rat, passivement immunisé, auquel ils injectent successivement dans le péritoine un sérum très actif et des trypano-

(1) « Recherches morphologiques et Expérimentales sur le Trypanosome des Rats (*T. Lewisi Kent*) », n° du 25 septembre 1901. Voir aussi : *Trypanosomes et Trypanosomiasis*, Paris, Masson, 1904.



somes, LAVERAN et MESNIL constatent la destruction des parasites par phagocytose. Les flagellés, demeurés mobiles malgré l'action agglutinante du sérum, sont englobés en pleine vitalité et cela tout comme chez le rat en immunité active. Ajoutons que LAVERAN et MESNIL ont très minutieusement mis en évidence que les actions agglutinante et préventive du sérum *anti-Lewisi* sont des propriétés nettement distinctes.

Ainsi, dès 1901, LAVERAN et MESNIL établissent, les premiers, ces deux faits essentiels : l'immunité active et passive du rat à l'égard du *T. Lewisi* est fonction d'une *stimulation* phagocytaire ; les trypanosomes sont détruits en pleine vitalité.

En outre, dans leur mémoire, ces auteurs montrent que le cobaye est susceptible de s'infecter légèrement à la suite d'une inoculation péritonéale de *T. Lewisi* : ils constatent, en effet, pour la première fois, une discrète multiplication des parasites dans le péritoine de cet animal. Avec KANTHACK, DURHAM et BLANDFORD (1), ils établissent que le trypanosome des rats, inoculé dans le péritoine du cobaye, pénètre dans le sang où ils le retrouvent déjà vingt-quatre heures après l'inoculation. Les trypanosomes augmentent d'abord de nombre dans la circulation sanguine jusqu'à atteindre 1/20^e à 1/50^e des hématies, puis deviennent plus rares et enfin disparaissent. La disparition des trypanosomes du péritoine est due à la phagocytose.

Il ressort de ces expériences que la phagocytose joue un rôle capital aussi bien chez le rat, animal réceptif, que chez le cobaye, animal réfractaire, infectés avec le *T. Lewisi*. C'est même pour ces auteurs le seul mode de disparition du parasite.

LEVADITI et SEVIN (2) montrent en 1903 que l'immunité de la souris et des calfats, naturellement réfractaires au *T. paddæ*, est une immunité d'ordre phagocytaire. Le trypanosome, avant de disparaître, est susceptible de se multiplier légèrement.

SAUERBECK (3), dans la consciencieuse étude qu'il a consacrée

(1) *Proceedings of the R. Society*, t. LXIV, 1898, et *Hygienische Rundschau*, n° 24, 1898.

(2) *Comptes Rendus de la Soc. de Biologie*, 15 avril 1903, p. 694, t. LVIII.

(3) *Zeitsch. f. Hyg. und Inf. Krankheiten*, 1903.

à l'histologie pathologique de l'infection des rats, des cobayes, des lapins et des chiens, par le Trypanosome du Nagana (*T. Brucei*), considère la phagocytose comme l'arme fondamentale de la défense. Par la méthode des coupes aussi bien que par celle des frottis, SAUERBECK a observé la phagocytose dans la rate, le foie, les ganglions lymphatiques, la moelle osseuse et l'épiploon. Il a très rarement observé des figures typiques de phagocytose : il n'a constaté, la plupart du temps, dans les mononucléaires des viscères et dans les cellules qui leur sont propres (cellules de Kupffer pour le foie, cellules endo-alvéolaires pour le poumon et peut-être cellules endothéliales des sinus pour les ganglions lymphatiques) que des restes analogues à des noyaux de flagellés.

En ponctionnant le péritoine des cobayes inoculés, depuis vingt-quatre à quarante-huit heures, avec *T. Brucei*, SAUERBECK a pu constater l'attachement des flagellés aux leucocytes, soit par leur extrémité antérieure, soit par leur extrémité postérieure. Les trypanosomes attachés à un seul mononucléaire étaient au nombre de plusieurs, deux, trois et même quatre. SAUERBECK n'a pu constater l'englobement en pleine vitalité des éléments fixés. Il ne nie d'ailleurs pas le processus décrit par LAYERAN et MESNIL, « puisque ces auteurs l'ont constaté », mais il croit que ce processus doit être très rare. SAUERBECK pense que le trypanosome une fois attaché au leucocyte est d'abord paralysé par un poison que sécrète le globule blanc. Il perd alors ses mouvements et, lorsque le phagocyte s'apprête à l'englober, il est déjà réduit à l'état de « grumeaux » plus ou moins ronds. Bref, l'originalité de la conception de SAUERBECK est que le trypanosome, une fois fixé au phagocyte, est d'abord paralysé par une sécrétion du globule blanc avant d'être incorporé. « Dans la règle, dit SAUERBECK, il se produit d'abord une fixation, puis une paralysie (1) ».

RODET et VALLET (2), dans la rate du rat et du chien naganés (*T. Brucei*), constatent à l'approche de la mort et surtout après elle, une destruction très accentuée des trypanosomes en dehors

(1) « In der Regel aber wird wohl eine Fixirung und nachfolgende Lähmung den Process einleiten », p. 77 du tiré à part.

(2) *Comptes rendus de l'Acad. des Sciences* ; 28 mai 1906, 6 août 1906, 29 juillet 1907, et *Archives de Médecine Expérimentale*, juillet 1906.

des leucocytes. Pour eux, SAUERBECK a eu tort de négliger ce phénomène qu'il a vu le premier « pour exagérer l'importance de la phagocytose (1) ». Celle-ci n'a qu'un rôle secondaire. Elle se borne à enlever les déchets des trypanosomes détruits par l'action trypanocide de la rate. Du reste, il n'y a aucun doute. En mélangeant, entre lame et lamelle, une goutte de sang nagané et une goutte de suc splénique, RODET et VALLET n'ont-ils pas constaté la mort rapide des trypanosomes?

LAVERAN et THIROUX (2) ont critiqué les résultats obtenus par RODET et VALLET en ce qui concerne la propriété trypanolytique de la rate. Leurs expériences ont été faites chez des cobayes inoculés avec *T. togolense* (virus fort de Martini) et des chiens inoculés avec *T. Pecaudi*. Pour LAVERAN et THIROUX, les frottis faits avec la rate, sitôt après la mort, ne montrent pas de trypanosomes désintégrés. L'extrait de rate ne jouit d'aucune action trypanocide. Les résultats de RODET et VALLET s'expliquent en grande partie par des fautes de technique (3).

MANTEUFEL (4), en injectant des *T. Lewisi* dans le péritoine de rats immunisés activement ou passivement, a bien vu l'attachement des trypanosomes aux mononucléaires par leur extrémité non flagellée. Ce phénomène n'aurait cependant aucune importance : les trypanosomes, au cours de leurs mouvements, sont susceptibles de s'attacher à tout ce qu'ils rencontrent sur leur passage, globules rouges et bulles d'air aussi bien que leucocytes. MANTEUFEL n'a pas vu l'attachement des trypanosomes être suivi d'englobement. « Une seule fois, il a pu observer, sans aucun doute, un trypanosome mobile, bien reconnaissable, à l'intérieur d'un globule blanc. » A l'examen des frottis colorés,

(1) P. 479 du *Mémoire des Archives de Médecine Expérimentale*.

(2) *Comptes rendus de l'Acad. des Sciences*, 1^{er} et 29 juillet 1907, et *Annales de l'Institut Pasteur*, t. XXI, août 1907.

(3) Nous noterons ici, simplement à titre documentaire, que JAFFÉ (*Centr. f. Bakter. I, Orig.*, t. LV, f. 6, 6 septembre 1910, pp. 519-527) a montré que les produits d'autolyse de la rate du rat, du lapin et du cobaye, neufs ou naganés, exercent une action trypanocide marquée. Il est, en conséquence, légitime de se demander si, dans certaines expériences faites *in vitro*, RODET et VALLET n'ont pas eu affaire, à leur insu, à des phénomènes d'autolyse. Cette hypothèse est d'autant plus plausible que les expériences de RODET et VALLET ont été faites, à Montpellier, *en été* (p. 481 du mémoire). On sait bien aujourd'hui que les endoferments cellulaires, responsables des phénomènes d'autolyse, ont leur optimum d'action à 38 et 40 degrés. Consulter à ce sujet l'excellente Revue de L. LAUNOY in *Bulletin de l'Institut Pasteur*, 1908, t. VI.

(4) *Arbeiten aus dem Kaiserlichem Gesundheitsamte*, novembre 1909.

l'auteur n'a rencontré à l'intérieur des leucocytes que de petits amas, plus ou moins irréguliers, ayant les réactions de la chromatine et qu'il interprète comme des vestiges de trypanosomes. MANTEUFEL pense que la destruction des trypanosomes relève exclusivement de la propriété lytique des humeurs.

En février 1909, F. MESNIL et E. BRIMONT (1) ont étudié le mode de destruction des trypanosomes du Nagana du Togoland, *T. togolense* MESNIL et BRIMONT (2), inoculés dans le péritoine des souris en mélange *in vitro* avec le sérum d'un bouc infecté avec ce virus. Ces auteurs ont constaté que la disparition des trypanosomes pathogènes a lieu chez la souris d'une manière identique à celle du *T. Lewisi* chez le rat immunisé. L'englobement du trypanosome du Nagana se fait même plus rapidement que celui du *T. Lewisi*.

Toujours en février 1909, MASSAGLIA (3) fit paraître un long travail dont une grande partie est consacrée à l'étude de l'immunité dans les trypanosomiasés.

C'est sur le cobaye, injecté avec le *T. Lewisi*, que MASSAGLIA poursuit ses « recherches relatives à la manière dont les trypanosomes sont détruits quand on les inocule à des animaux réfractaires ». Les expériences de MASSAGLIA portent sur deux cobayes de 300 et 400 grammes.

Pour MASSAGLIA, le cobaye serait absolument réfractaire au *T. Lewisi*, qui ne passerait pas dans la circulation sanguine et serait détruit en quelques heures dans le péritoine, à l'endroit de l'injection. En faisant des ponctions abdominales de demi-heure en demi-heure, MASSAGLIA aurait constaté que les trypanosomes ne commencent à être détruits qu'au bout d'une heure et demie à deux heures après le moment de l'injection. Jusque-là, les flagellés resteraient en parfaite intégrité. Il y a donc, de l'aveu même de MASSAGLIA, une phase en quelque sorte latente, qui suit l'injection des parasites, au cours de laquelle ceux-ci demeurent intacts; phase de durée sensible puisqu'elle peut persister deux heures, c'est-à-dire la moitié

(1) *Annales de l'Institut Pasteur*, t. XXIII, février 1909.

(2) F. MESNIL. Sur l'identification de quelques trypanosomes pathogènes. *Société de Pathologie Exotique*, juin 1910.

(3) Communication faite à la Société médico-chirurgicale de Modène, séance du 13 février 1909.

du temps nécessaire à la destruction de tous les parasites. Pour MASSAGLIA, le rôle de la phagocytose, chez le cobaye, est sinon nul, du moins très secondaire. Ce sont les trypanoly-sines contenues dans le liquide péritonéal qui détruisent les microbes et nullement les phagocytes. La destruction des trypanosomes a lieu par un mécanisme analogue à celui qui se passe chez les animaux immunisés contre le vibrion de Koch (1).

L'immunité active et passive du rat à l'égard du *T. Lewisi* serait également pour MASSAGLIA d'ordre humoral.

Au mois de septembre 1909, ce savant (2), étendant ses premières recherches, étudia, dans le laboratoire du professeur LAVERAN, le mode naturel de défense de certains vertébrés à sang froid — couleuvre à collier, tortues, grenouilles (maintenues à la température ordinaire ou chauffées), tritons, lézards — à l'égard du trypanosome du Surra, *T. Evansi* STEEL, inoculé sous forme de sang de cobaye, de rat et de souris riche en parasites. MASSAGLIA ne constate pas la phagocytose : les trypanosomes sont très rapidement détruits en dehors des leucocytes.

LEVADITI et MUTERMILCH (3) ont dernièrement appelé l'attention sur le mécanisme de la phagocytose.

En mélangeant, dans un tube à essai, 1 goutte de sang de souris naganée (*T. Brucei*), des globules blancs de cobaye neuf et du sérum trypanolytique, préalablement inactivé, de cobaye saigné au moment de la crise (RODET et VALLET, MASSAGLIA), ces

(1) Cette comparaison est faite également par MC NEAL au cours d'un mémoire sur « le Cycle évolutif du *T. Lewisi* et du *T. Brucei* ». *Journ. of Inf Diseases*, vol. I, n° 4, 5 nov. 1904, p. 517-543. Voici le passage de MC NEAL auquel nous faisons allusion : « By injecting trypanosomes (*T. Lewisi*) into the peritoneal cavity of guinea pigs immunized to this organism, and subsequently examining the peritoneal fluid, LAVERAN et MESNIL were able to find various stages of ingestion of the protozoa by the leucocytes. We have attempted to confirm this by a similar procedure. Instead of phagocytosis, however, we could find evidence only of the immobilization and gradual solution of the trypanosomes in the peritoneal fluid. Stains made from time to time showed the protoplasm of the parasites paler than before, until finally it seemed to have dissolved. The process appeared to be quite analogous to that met with in the well-known Pfeiffer's phenomenon. In other words, the trypanosomes disappear as the result of the presence and action of cytolytic agents rather than by phagocytosis. » P. 526-527.

(2) *Comptes rendus de l'Acad. des Sciences*, 13 septembre 1909, p. 516.

(3) *Comptes rendus de la Soc. de Biologie*, séance du 13 juin 1910, t. LXVIII, p. 1079.

auteurs constatent que les trypanosomes, après s'être fixés sur les leucocytes, sont finalement englobés.

L'attachement des trypanosomes aux leucocytes est un phénomène *d'ordre physico-chimique*, dans lequel la vitalité des leucocytes n'est pour rien. Il se produit aussi bien avec des leucocytes tués (par séjour prolongé à 0 degré, par congélations et décongélations successives, par chauffage à 45 degrés, 55 degrés et même 60 degrés) qu'avec des leucocytes vivants.

Cet attachement n'en est pas moins spécifique. Mélangés à une bouillie d'organe (foie ou rein), les trypanosomes se fixent exclusivement sur les leucocytes contenus dans cette bouillie.

Le trypanosome, au cours de l'englobement, ne resterait mobile qu'autant que la région du noyau n'est pas atteinte, mais, « *à partir de ce moment, il se meut de moins en moins, finit par s'immobiliser et devient transparent (TRYPANOLYSE) avant qu'il soit totalement phagocyté* ». LEVADITI et MUTERMILCH pensent que les leucocytes vivants, excités par l'attachement de l'objet phagocytable, sécrètent un poison microbicide destiné à imprégner le trypanosome sensibilisé et à le détruire, avant qu'il soit complètement incorporé. Cette sécrétion aurait lieu au moment même de l'acte phagocytaire, car il a été impossible à LEVADITI et à MUTERMILCH de retirer des globules blancs une substance capable de détruire *in vitro* les trypanosomes sensibilisés.

De cet ensemble de données bibliographiques, il ressort qu'il existe une divergence d'opinions : LAVERAN et MESNIL, MESNIL et BRIMONT décrivent des phénomènes de phagocytose tout à fait typiques; MASSAGLIA, MANTEUFEL, RODET et VALLET pensent au contraire que la destruction des trypanosomes relève exclusivement de l'action trypanocide des humeurs, les leucocytes jouant seulement le rôle de balayeurs de déchets.

SAUERBECK est d'opinion mixte : la destruction des trypanosomes est due au leucocyte. Celui-ci est l'âme même de la défense. Seulement la destruction des parasites, à cause de l'activité toxique des globules blancs, arriverait avant que l'englobement soit complet. Telle est aussi, nous l'avons vu, l'opinion de LEVADITI.

Il n'était donc pas sans intérêt d'envisager à nouveau l'importance de la phagocytose dans la destruction des flagellés. Nous avons dans ce but étudié, sur les conseils de notre maître M. MESNIL, professeur à l'Institut Pasteur, l'immunité de la souris à l'égard d'un certain nombre de protozoaires.

L'IMMUNITÉ NATURELLE DE LA SOURIS

A L'ÉGARD

DES CULTURES DE BOUTON D'ORIENT ET DE KALA-AZAR TUNISIENS

(*Leishmania tropica* J. H. WRIGHT, 1903,
et *Leishmania infantum* CH. NICOLLE, 1908.)

La souris blanche possède à l'égard des cultures (1) de Kala-Azar et de bouton d'Orient tunisiens une immunité naturelle très forte, que des injections péritonéales fréquemment répétées et faites pendant des mois n'arrivent pas à vaincre (1). Ainsi, du 7 octobre 1910 au commencement de mars 1911, nous avons, sans aucun succès, inoculé, à cinq ou six jours d'intervalle, douze souris avec des cultures de ces virus arrivées au

(1) Ces cultures ont été aimablement fournies à M. MESNIL par M. CH. NICOLLE, de Tunis. Elles ont été depuis régulièrement entretenues dans le laboratoire de M. MESNIL par passages en milieu Novy, simplifié par CH. NICOLLE.

Voici la manière exacte dont nous préparons le milieu de culture : sel marin, 6 grammes; gélose *non lavée*, 14 grammes; eau, 900 cent. cubes. Répartir dans des tubes sans neutralisation ou alcalinisation préalable, puis stériliser à l'autoclave par un chauffage à 120 degrés un quart d'heure. Les tubes sont encapuchonnés et conservés à l'abri de la lumière. Au moment de s'en servir, on en fait fondre le contenu dans de l'eau bouillante. On les laisse ensuite se refroidir et quand la température est descendue à 45-50 degrés, on y incorpore, en volume, un tiers de sang *dé fibriné* de lapin. On mélange intimement gélose et sang. Les tubes, afin de permettre au milieu d'adhérer au verre, sont conservés, inclinés, à 28° pendant une nuit. Le lendemain, on les encapuchonne de nouveau et on les place à 37 degrés seulement deux à trois heures. Cela suffit pour permettre au liquide de condensation de se former en petite quantité. Les tubes sont ensuite placés à la glacière, où on peut les conserver pendant un mois et plus, à une température voisine de 0 degré, jusqu'au moment de l'ensemencement. Le sang *dé fibriné* doit être aussi frais que possible. Il est entendu qu'avant la préparation des milieux, on en éprouvera la stérilité par ensemencement en bouillon simple.

(2) MM. A. LAVERAN et A. PETIT ont pu déterminer chez la souris et le rat des infections légères, essentiellement guérissables, en leur inoculant une émulsion de rate et de foie de chien infecté de Kala-Azar tunisien.

maximum de leur développement. Les injections étaient faites à la dose de un demi-centimètre cube environ.

Le mécanisme de cette immunité naturelle est des plus simples. Il est le même, qu'il s'agisse de Bouton d'Orient ou de Kala-Azar. Il est particulièrement facile à mettre en évidence avec les cultures de Bouton d'Orient; car ces cultures, en milieu Novy simplifié, sont sensiblement plus riches que celles de Kala-Azar. Sitôt injectés, les leptomonas de culture se piquent sur les lymphocytes, gros et petits, qui normalement abondent dans le péritoine de la souris. Cette fixation des flagellés est très rapide. Déjà, une minute après l'injection, on constate qu'un grand nombre de leptomonas sont adhérents. En quinze minutes, la fixation est quasi totale. Le nombre des flagellés attachés à un leucocyte est très variable. On peut en constater jusqu'à 10 à 12 sur un seul globule blanc. C'est ordinairement par l'extrême bout du flagelle que les leptomonas se piquent sur les leucocytes, mais ils peuvent y adhérer soit par leur extrémité postérieure, soit plus rarement en un point quelconque du corps.

On peut aussi constater, mais rarement, la fixation d'un leptomonas sur un globule rouge; cette fixation a lieu par le bout du flagelle. Elle peut être telle que le leptomonas n'arrive pas à se débarrasser de l'hématie, qu'il secoue avec violence.

La fixation des leptomonas n'a donc pas lieu exclusivement sur les globules blancs. Nous n'avons pas vu plusieurs leptomonas attachés à un seul globule rouge. Par contre, ce fait est très fréquent avec les mononucléaires.

Les lymphocytes ne tardent pas à réagir à la fixation des protozoaires. On peut les voir, sous le microscope, une fois accommodés à la température du laboratoire, montrer un petit promontoire protoplasmique juste au point de fixation du flagelle, puis, de part et d'autre de celui-ci, allonger deux minces et fins pseudopodes, transparents et dépourvus de granulations cytoplasmiques. Ces pseudopodes, peu à peu, grandissent et finissent par saisir en totalité le leptomonas. Une fois l'englobement complet, le leucocyte rentre ses pseudopodes et régularise son contour. Peu après, on voit apparaître en plein cytoplasme, une vacuole claire, transparente, ronde

ou plus fréquemment ovulaire, à contours parfaitement nets, dans laquelle on distingue le leptomonas, renflé en boule, dont les contours épousent étroitement ceux de la vacuole. Celle-ci, on le devine, n'est rien autre qu'une vacuole digestive. Rapidement, en effet, le protozaire inclus devient transparent; les granulations cytoplasmiques de son protoplasme sont animées d'un mouvement brownien très net, diminuent de grosseur, puis de nombre, et ainsi jusqu'à disparition complète. Il est d'ailleurs facile de contrôler par des préparations colorées toutes les phases de la digestion phagocytaire qu'on aura pu suivre simplement entre lame et lamelle. Il suffit même de déposer sur une lame une goutte de l'exsudat péritonéal d'une souris neuve et une goutte de culture et de recouvrir le tout d'une lamelle pour assister *in vitro* à toutes les phases de l'englobement.

La technique que nous avons employée, pour la coloration des frottis de liquide péritonéal, est la suivante : fixation humide aux vapeurs osmiques (solution aqueuse à 1 p. 100) quinze secondes; après dessiccation, surfixation à l'alcool-éther, parties égales, deux minutes. Laisser sécher. Laver à l'eau courante et colorer vingt minutes dans une dilution de Giemsa, au 10° (1 cent. cube de Giemsa pour 10 cent. cubes d'eau distillée).

Il est nécessaire que la coloration suive de près la fixation. Des préparations fixées seulement depuis 48 heures se colorent mal, dans tous les cas moins bien que si elles avaient été colorées de suite après la fixation.

Pour les frottis, les dilutions de Giemsa au 10° valent mieux que les dilutions au 50° ou au 100°. Celles-ci, en raison du long espace de temps qu'elles exigent (12 à 15 heures au minimum), donnent lieu à un abondant précipité rougeâtre qui gêne la lecture des préparations. Pour les coupes, au contraire (nous détaillerons plus loin leur mode de coloration), les dilutions au 50° ou au 100° valent mieux : le précipité rougeâtre est entièrement enlevé par l'acétone au moment de la déshydratation.

C'est en pleine vitalité que les leptomonas de culture sont englobés. On se rend surtout compte de ce fait quand on a affaire à des leptomonas fixés par leur extrémité postérieure.

Le flagelle, qui est alors la dernière partie englobée, reste mobile jusqu'à complète disparition. Nous n'avons jamais constaté d'action lytique en dehors des globules blancs. Le sérum de la souris n'a d'ailleurs aucune action nocive sur les cultures de Bouton d'Orient et de Kala-Azar; par l'immunisation, on développe simplement une légère propriété agglutinative qu'on ne peut d'ailleurs affirmer que dans le cas des cultures de Bouton d'Orient, puisque le Kala-Azar donne déjà en culture de nombreux amas de microbes. Notons, en passant, que les leptomonas des cultures de Bouton d'Orient s'agglutinent de façon quelconque; ils se rapprochent les uns des autres et s'entremêlent sans disposition spéciale. On ne peut donc trouver ici confirmation de la théorie de PROWAZEK (1905), qui prétend qu'au cours de l'agglutination des trypanosomes en rosaces, le blépharoplaste sécrète une substance visqueuse qui tend à les réunir les uns aux autres. Si cette théorie était exacte, les leptomonas auraient tendance à se grouper par leurs extrémités antérieures.

Bref, l'immunité naturelle de la souris à l'égard des *Leishmania tropica* et *infantum*, en culture, est une immunité d'ordre exclusivement phagocytaire. Les leptomonas, introduits dans le péritoine, sont l'objet d'une phagocytose rapide. En une 1/2 heure à 3/4 d'heure, une souris neuve se débarrasse totalement des flagellés contenus dans 1/2 cent. cube de culture arrivée au maximum de richesse.

Enfin, même en injectant de très fortes doses de culture dans le péritoine d'une souris, 2 à 3 cent. cubes par exemple, on ne constate jamais la pénétration des éléments flagellés dans le sang. La défense est victorieusement assurée par les seuls lymphocytes de la cavité péritonéale.

L'IMMUNITÉ NATURELLE DE LA SOURIS A L'ÉGARD DES CULTURES DE TRYPANOSOMES DIVERS

(*T. rotatorium* MAYER, 1843; *T. noctuæ* SCHAUDINN, 1904; *T. scardinii* BRUMPT, 1906; *T. phoxini* (1) BRUMPT, 1906; *T. Theileri* LAVERAN, 1902, et *T. vespertilionis* BATTAGLIA, 1903.)

La culture de ces divers flagellés a été faite, par nous, au laboratoire de M. MESNIL, dans le milieu de Novy-Nicolle, dont nous avons donné la formule et le mode de préparation.

Nous avons isolé le *T. rotatorium* MAYER le 8 mai 1911, d'une *Rana esculenta* L., achetée sur les quais de la Seine. La culture de ce trypanosome fut entretenue pendant 4 mois. Elle se fait très abondante du 8^e au 10^e jour, à la température ordinaire du laboratoire. L'isolement fut fait en ponctionnant la veine abdominale, que l'on découvre après incision et écartement de la peau. Cette veine est recouverte par une légère couche musculaire, qu'il est facile de cautériser complètement sans léser aucunement le vaisseau. A la ponction, on recueille, par aspiration, plus de 1/2 cent. cube de sang. Ce procédé nous a paru plus pratique et plus fidèle que celui de la ponction du cœur : il nous a constamment donné des succès. Nous avons inoculé aux souris des cultures de *T. rotatorium* des 5^e, 6^e, 7^e, 8^e et 9^e générations, faites du 5 juin au 26 juillet 1911.

Le *T. noctuæ*, avec lequel nous avons expérimenté, provient du laboratoire du professeur HARTMANN. Nous l'entretenez régulièrement depuis le 15 mai 1911. Les cultures de *T. noctuæ* sont remarquables par leur richesse.

Nous avons isolé *T. scardinii* de rotengles (*Scardinius erythrophthalmus*) provenant de l'étang de Garches. L'isolement fut pratiqué le 25 mars 1910. Ce trypanosome fut entretenu pendant plus d'un an en milieu artificiel. Nous avons inoculé aux souris des cultures provenant des 15^e, 16^e, 18^e et 19^e générations faites du 27 novembre 1910 au 30 janvier 1911.

(1) Nous employons les noms spécifiques créés par BRUMPT et dérivés du nom générique du poisson infecté. Mais il est très possible qu'il n'y ait pas là d'espèces distinctes du *T. Danilewskyi* LAVERAN et MESNIL de la carpe.

Nous avons isolé *T. phoxini* de vairons (*Phoxinus laevis* AGASS.) achetés sur les quais de la Seine. L'isolement, difficile en raison de la petitesse de l'animal, fut fait, pour la première fois, par nous le 29 novembre 1910. Nous avons entretenu ce trypanosome pendant 8 mois en milieu Novy-Nicolle. Nous avons inoculé aux souris des cultures provenant des 3^e, 4^e, 5^e et 6^e générations faites du 14 février au 7 mars 1911.

Nous avons isolé (1), le 15 janvier 1911, un trypanosome voisin de *T. Theileri* des bœufs d'Alfort, dans le service de M. le professeur MOUSSU. La première culture fut faite en bouillon simple, les suivantes en milieu Novy-Nicolle. Nous avons inoculé aux souris les cultures des 5^e, 6^e, 7^e et 8^e passages, ensemencées du 3 au 23 mars 1911 et injectées au maximum de leur croissance, vers le 7^e jour.

Le *T. vespertilionis*, qui nous a servi, est dû à l'amabilité de M. CH. NICOLLE. Ce trypanosome, qui fut cultivé par nous pendant près de deux ans, est isolé depuis 1907; et à partir de ce moment, il fut sans interruption cultivé en milieu de Novy-Nicolle.

L'immunité naturelle de la souris à l'égard de ces divers flagellés est très forte. Les microbes ne pénètrent jamais dans le sang quand ils sont injectés dans le péritoine, même à haute dose. Ils sont détruits sur place, en 1/2 heure au plus. On peut se faire une idée très exacte de la rapidité de destruction en mélangeant sur lame une goutte de culture et une goutte de liquide péritonéal d'une souris neuve. Très rapidement, les *Crithidia* et les trypanosomes de culture sont la proie des mononucléaires (2). Fixés généralement par leur extrémité postérieure, on peut, en 3 à 4 minutes, assister à leur englobement complet. Les flagelles, dernière partie englobée, restent mobiles jusqu'à la fin, c'est-à-dire jusqu'à ce qu'ils soient entièrement pris par les deux minces pseudopodes du leucocyte. C'est donc en pleine vitalité que les flagellés des cultures sont détruits. La phagocytose est le seul mode de destruction des parasites, et il est très facile de s'en assurer.

(1) *Soc. de Pathologie exotique*, séance du 11 octobre 1911, t. IV, n° 8.

(2) Les polynucléaires sont susceptibles, mais dans une très faible mesure, de jouer le rôle de phagocytes.

L'IMMUNITÉ DE LA SOURIS A L'ÉGARD

DE T. LEWISI KENT, 1881.

A. — IMMUNITÉ NATURELLE. SON MÉCANISME.

Les souris sont, en général, réfractaires au *T. Lewisi*. Le fait est classique.

Nous avons vu que les flagellés de diverses cultures de protozoaires sont très rapidement phagocytés *in vivo* comme *in vitro* par les leucocytes de la souris.

Avec le *T. Lewisi*, il n'en va pas de même. *In vitro*, le mélange de sang trypanosomé et de liquide péritonéal n'est pas suivi de phagocytose.

Chez le vivant, l'injection des trypanosomes dans le péritoine est suivie d'une phase latente, de durée variable, pendant laquelle les flagellés, non seulement se conservent, mais peuvent se multiplier, ce qu'atteste la présence de petites formes et de rosaces à 4 ou 5 éléments au plus. LEVADITI et SEVIN, nous l'avons vu, ont constaté un fait analogue chez les calfats naturellement réfractaires au *T. paddæ*.

Les trypanosomes peuvent, en partie, facilement pénétrer du péritoine dans le sang. Après une forte inoculation (1/2 à 1 cent. cube de sang trypanosomé), déjà 20 minutes à 1/2 heure après, on peut se rendre compte de cette pénétration : en examinant une goutte de sang prise à la queue, on y constate de rares trypanosomes. Ceux-ci augmentent de nombre pendant plusieurs heures (4 à 5 en moyenne), puis leur nombre décroît lentement. Les trypanosomes cessent d'être visibles dans le sang plus rapidement que dans le péritoine. La disparition totale des parasites a lieu entre 36 et 48 heures. LAVERAN et MESNIL, avant nous, ont, à ce sujet, fait des constatations analogues. « Après avoir injecté, disent-ils, du sang riche en trypanosomes dans le péritoine des souris blanches, nous avons vu que les trypanosomes se retrouvaient dans le péritoine et dans le sang après 24 heures; au bout de 48 heures, ils avaient toujours disparu (1). »

(1) *Loc. cit.*

Lorsqu'on inocule une dose faible, 1 à 2 gouttes de sang, pour se rendre compte de la présence des trypanosomes dans le torrent circulatoire, il faut sacrifier les souris, aspirer le sang du cœur et le centrifuger : on trouvera des trypanosomes dans le culot de centrifugation.

Bref, que l'on injecte une dose forte ou faible, la pénétration des trypanosomes dans le sang a toujours lieu ; de telle sorte que, pour résoudre le problème de l'immunité naturelle de la souris, il faut se demander ce que devient le *T. Lewisi*, non seulement dans le péritoine, mais encore dans les viscères.

Lorsqu'on ponctionne, à intervalles rapprochés, le péritoine d'une souris inoculée, on constate très nettement, lors des deux ou trois premières ponctions, que les trypanosomes sont tous ou presque tous entièrement libres et dans un parfait état d'intégrité. ROUDSKY (1) a vu, à l'état frais, des mononucléaires de souris phagocyter des trypanosomes, et cela par le même processus que LAVERAN et MESNIL ont fait connaître chez le rat immunisé et chez le cobaye. Nous avons, de notre côté, fait semblable constatation. Mais il faut ajouter que la phagocytose se constate rarement. Et c'est bien là qu'est la difficulté du problème. Le plus souvent, on n'observe que des trypanosomes fixés par leur extrémité postérieure sur les leucocytes. Ceux-ci ne réagissent pas à l'attachement des protozoaires et l'on peut, pendant des heures, observer des trypanosomes piqués sur des mononucléaires, sans que la moindre réaction se manifeste de la part du globule blanc. Les leucocytes de la souris, placés entre la lame et la lamelle, à la température du laboratoire, se trouvent dans des conditions très désavantageuses pour phagocyter le *T. Lewisi*. Nous avons vu qu'il en était tout autrement avec les flagellés des cultures. Pour que la phagocytose du *Lewisi* puisse se faire *in vitro*, il faut qu'elle débute dans le péritoine et qu'elle soit déjà en partie faite. De là, sans aucun doute, la difficulté que l'on éprouve à la constater. Comme l'acte phagocytaire est difficilement visible, dans l'espoir de mieux le rencontrer, nous n'avons pas hésité, ainsi que l'a fait MASSAGLIA chez le cobaye, à multiplier les ponctions péritonéales. A partir d'un nombre de ponctions, variable suivant les souris, nous

(1) *Comptes rendus de la Soc. de Biologie*, 6 mai 1914, t. LXX, p. 693.

avons constaté la présence de trypanosomes détruits en dehors des leucocytes. Dès lors, il fallait se demander si la disparition des parasites est due à la phagocytose ou à l'action trypanolytique du liquide péritonéal, ou encore à ces deux processus réunis. Après de nombreuses recherches, nous avons la conviction que la phagocytose est le seul processus normal de destruction des trypanosomes. Par la répétition des ponctions, on met le péritoine dans un véritable état pathologique. On sait bien aujourd'hui qu'il suffit d'une simple piqûre de la paroi abdominale pour amener, durant plusieurs heures, une leucopénie plus ou moins manifeste, sur le déterminisme de laquelle on ne s'entend pas d'ailleurs pas.

Pour les uns, du fait seul de la piqûre, il y a destruction d'un nombre plus ou moins considérable de leucocytes; pour les autres, la piqûre amène la transformation du fibrinogène du liquide péritonéal en fibrine; le réseau de fibrine, en se constituant, enserrerait dans ses mailles plus ou moins de leucocytes. Quoi qu'il en soit, il paraît établi que toute piqûre de la paroi du ventre, si minime soit-elle, surtout chez un animal aussi petit que la souris, peut entraîner des lésions appréciables. Nous pensons que celles-ci sont constituées, pour une grande part, par des altérations leucocytaires. Nous avons, en effet, constaté sur les frottis de liquide péritonéal, prélevé après plusieurs piqûres abdominales, des leucocytes avec des noyaux en karyolyse, réduits à l'état de boules régulières, mais d'inégale grosseur, répandues dans le cytoplasme : témoignage histologique indéniable de la souffrance du péritoine. Grâce aux altérations des leucocytes, les substances trypanolytiques contenues dans les phagocytes diffusent dans le liquide péritonéal. Cette hypothèse se renforce du fait que nous avons assisté *in vitro* à la destruction extracellulaire des trypanosomes. En voici, entre plusieurs autres, un exemple des plus convaincants : le 22 mars 1911, nous inoculons, dans le péritoine d'une souris neuve, de 20 grammes, un centimètre cube de sang citraté d'un jeune rat très fortement infecté. Treize heures après, le sang de la souris contient quinze à vingt parasites par champ (oculaire compensateur n° 4, objectif STIASSNIE n° 5). Nous en mettons une goutte entre lame et lamelle que nous lutons à la paraffine. Nous traitons de même

une goutte de liquide péritonéal de ponction. Les trypanosomes, sitôt qu'ils viennent d'être retirés de l'organisme, sont tous, sans exception, très mobiles. Les préparations, de contrôle, au Giemsa, montrent que les trypanosomes sont en parfait état d'intégrité. Au bout de dix minutes, manifestement au bout d'un quart d'heure, alors que les flagellés contenus dans la goutte de sang conservent leur aspect normal, les trypanosomes contenus dans le liquide péritonéal montrent des altérations de plus en plus accentuées. Celles-ci débutent à certains endroits de la préparation; puis, elles s'étendent et se généralisent. C'est d'abord une paralysie notable du trypanosome; le flagelle et la membrane ondulante se mouvant si paresseusement qu'il devient incapable de se déplacer. Finalement, c'est l'immobilité complète. Alors, le protoplasme devient clair, vitreux; il montre des vacuoles d'inégale grosseur, de plus en plus nombreuses. Le contour du trypanosome finit par ne plus être reconnaissable; on ne voit plus que le flagelle auquel adhère le blépharoplaste. Bref, le trypanosome a littéralement fondu, en l'espace de quinze à vingt minutes, sous l'œil qui l'observait. La destruction des trypanosomes s'échelonne pendant plusieurs heures. Au bout de six heures, presque tous les trypanosomes sont détruits. Les trypanosomes, contenus dans la goutte de sang, gardent, au contraire, leur intégrité première. ROUBSKY (1) a observé, de son côté, que « le sérum sanguin de la souris blanche constitue un milieu favorable pour la conservation *in vitro* du *T. Lewisi* ».

Ainsi, en conservant, entre lame et lamelle, le liquide péritonéal de souris infectées, les trypanosomes, très mobiles au sortir de l'organisme, peuvent se détruire complètement en l'espace de quelques heures et se réduire à l'appareil flagellaire.

Il faut, en conséquence, se résigner à ne ponctionner qu'une fois le péritoine des souris et à faire, sitôt après la prise, des frottis avec le liquide péritonéal de ponction. Le seul inconvénient de cette technique est de multiplier beaucoup le nombre des animaux mis en expérience. On devra également ne tenir

(1) *Comptes rendus de la Soc. de Biologie*, séance du 12 mars 1940.

compte que des préparations d'une parfaite coloration : de la sorte, on constate que les trypanosomes retirés des péritoines des souris, quel que soit le moment de la ponction, sont en parfaite intégrité. Par contre, sur ces mêmes frottis, on rencontre, par lame, deux ou trois figures indéniables de phagocytose.

Il est probable que la digestion des trypanosomes se fait très vite; la digestion du protoplasme serait très rapide, car, avec la plupart des auteurs, nous n'avons que très rarement observé dans les leucocytes des trypanosomes renflés en boule à l'intérieur de vacuoles digestives. Nous avons seulement vu, plongeant en plein cytoplasme cellulaire et tranchant vigoureusement par contraste de coloration, le noyau et le blépharoplaste. Fréquemment, le blépharoplaste existe seul. Ailleurs, nous avons observé dans les leucocytes des enclaves ayant la réaction de la chromatine nucléaire; sont-ce des restes de trypanosomes digérés?

Nous avons aussi recherché la destinée des trypanosomes dans les viscères. Nous fûmes obligé, dans ce but, d'inoculer aux souris une forte proportion de virus (au moins 1/2 cent. cube de sang; la plupart du temps, 1 à 2 cent. cubes de sang). Avec les doses faibles (1 à 2 gouttes), la quantité de trypanosomes qui passent dans la circulation est si faible, qu'il serait puéril de vouloir les rechercher sur les coupes. Nos recherches, tant par la méthode des frottis que par celle des coupes, ont porté principalement sur la rate, le foie, les poumons, les ganglions lombaires, la moelle osseuse; accessoirement, sur l'épiploon et la paroi abdominale fixée en pleine épaisseur musculaire. Les souris étaient tuées au chloroforme ou asphyxiées au gaz d'éclairage.

D'une manière générale, au point de vue de la coloration des trypanosomes, les frottis nous ont donné des résultats bien supérieurs à ceux des coupes. Nous n'avons pas réussi à différencier le flagelle des trypanosomes contenus dans les coupes. Par contre, nous avons coloré avec une grande netteté le corps même du trypanosome ainsi que les noyau et blépharoplaste : le cytoplasme apparaît en bleu délicat, très finement alvéolaire; le noyau en rouge; le blépharoplaste en violet foncé.

La méthode que nous avons employée pour la fixation et la

coloration des coupes est à peu près celle qu'a fait connaître dernièrement GIEMSA (1). Comme fixateur, le sublimé hydro-alcoolique acétique de SCHAUDINN et PROWAZEK :

Solution saturée aqueuse de sublimé 2 parties.
Alcool absolu ou à 95 degrés. 1 partie.
Acide acétique pur, 1 p. 100 du total.

Suivant les conseils donnés par M. BORREL dans ses Cours, c'est à la glacière, à une température voisine de 0 degré, que nous avons fait nos fixations. Comparativement, les fixations faites à basse température nous ont paru supérieures à celles faites à la température du laboratoire. Suivant la grosseur des pièces, le temps de la fixation varie de 5 à 12 heures. Les poumons ont été fixés *in toto*, suivant l'excellente pratique préconisée par M. BORREL (2), la trachée est liée avant que d'ouvrir le thorax. Puis, tout l'arbre pulmonaire est enlevé d'un bloc, plongé à même le fixateur et recouvert d'une couche d'ouate hydrophile suffisante pour empêcher les poumons de flotter. Au bout de 5 à 6 heures, pour faciliter la pénétration du fixateur, on pratique au bistouri des incisions dans les poumons. Au bout de 12 heures, la fixation est faite.

La ligature de la trachée avant l'ouverture du thorax a pour but de fixer le poumon en extension physiologique. Sans cette précaution, les alvéoles s'affaissent parfois, si bien que les coupes deviennent absolument illisibles. Avec des alvéoles moyennement distendues, les coupes de poumons apparaissent comme une dentelle bien ajourée, et il devient très simple de s'y retrouver.

Au sortir du fixateur, afin d'être bien certain d'enlever tout le sublimé, les fragments d'organes sont plongés pendant trois jours dans l'alcool à 70° iodé. Puis, on les fait passer par la série classique : alcool à 80 degrés, 24 heures; alcool à 95 degrés, 24 heures; alcool à 100 degrés, 12 heures; xylol, 12 heures; xylol-paraffine, 12 heures; paraffine, 12 heures. Les coupes sont débitées à 6 μ et colorées au Giemsa en solution faible : 1 goutte pour 2-5 cent. cubes d'eau distillée.

(1) *Deutsche mediz. Woch.*, 1910, n° 12.

(2) *Annales de l'Institut Pasteur*, t. VII, p. 593.

Laisser agir trente-six à quarante-huit heures, et renouveler le bain colorant au bout de vingt-quatre heures. La déshydratation, après lavage à l'eau courante, a lieu dans des mélanges, à proportions variables, d'acétone et de xylol. Il est pratique de mettre ces mélanges dans des tubes Borrel étiquetés 1, 2, 3 et 4, et de porter les lames successivement du tube 1 au tube 4.

Les mélanges contenus dans les tubes sont les suivants :

Tube I. — Acétone	95 cent. cubes.
Xylol	5 —
Tube II. — Acétone	70 —
Xylol	30 —
Tube III. — Acétone	30 —
Xylol	70 —
Tube IV. — Xylol pur.	

Après passage dans le tube 4, il ne reste plus qu'à monter au baume.

D'après S.-B. WOLBACK et S.-H. Mc KEE, l'addition de colophane à l'acétone (20 p. 100 de colophane) empêcherait la décoloration de l'éosine. Nous n'avons pas obtenu de meilleurs résultats en appliquant ce procédé (1).

Nous devons tout de suite dire que, sur les nombreuses coupes que nous avons pratiquées, nous n'avons pas trouvé une seule figure histologique susceptible d'être interprétée nettement comme le résultat de la phagocytose. Nous avons simplement rencontré dans les phagocytes des enclaves analogues à celles des leucocytes du péritoine. Par contre, nous avons constaté avec la dernière netteté que les trypanosomes contenus dans les viscères, et notamment dans la rate (2), sont en parfait état d'intégrité, ce qui rend très improbable leur destruction par trypanolyse.

Il nous est arrivé à maintes reprises de voir des trypanosomes piqués sur les leucocytes et à divers stades de phagocytose sur des frottis de rate et de ne rien constater de sem-

(1) *Journ. of med. Res.*, t. XXIV, n° 2, avril 1911.

(2) Quand on examine, entre lame et lamelle, un fragment de rate trypanosomée disséquée dans de l'eau physiologique, il passe dans le champ du microscope une série de formes bizarres que l'on pourrait prendre pour des trypanosomes altérés et qui ne sont en réalité que des amas d'hématoblastes. Aussi ne doit-on faire confiance qu'aux préparations colorées.

blable sur les coupes. Ce résultat s'explique par l'imparfaite coloration des trypanosomes autant que par le trop grand tassement des éléments cellulaires dans les coupes. Du fait de la compression des leucocytes, il y a une réelle impossibilité à dire si les trypanosomes sont à l'intérieur des leucocytes ou simplement à côté d'eux, étant donné que le cytoplasme du phagocyte et celui du trypanosome se colorent dans le même ton, en bleu plus ou moins foncé. Les trypanosomes, dans la rate, se rencontrent au niveau de la pulpe splénique et surtout au niveau des sinus veineux. Nous n'avons pas noté leur présence au niveau des corpuscules de Malpighi.

Une lésion est constante au niveau du foie : l'hyperplasie des cellules de Kupffer. Celle-ci peut présenter tous les degrés. Tantôt, elle se limite au simple boursoufflement du noyau ; tantôt, c'est toute la cellule qui est tuméfiée, allongée en un long fuseau, parallèlement au vaisseau. Il est probable que les cellules de Kupffer en hyperplasie abandonnent la paroi des capillaires, car ceux-ci peuvent être dénudés sur un parcours plus ou moins long. L'endothélium des capillaires hépatiques joue vraisemblablement un rôle actif dans la phagocytose des trypanosomes. Il nous est cependant impossible d'en fixer exactement l'importance, car nous n'avons trouvé dans le cytoplasme des cellules endothéliales que des fragments irréguliers, ayant les réactions de la chromatine et qu'on ne pouvait qu'hypothétiquement rapporter à des trypanosomes dégénérés.

Les capillaires hépatiques des souris infectées sont plus riches en globules blancs que normalement. On y rencontre peu de lymphocytes, surtout des mononucléaires gros et moyens et quelques mastzellen. Le cytoplasme des mononucléaires des capillaires contient fréquemment des enclaves chromatiques.

L'abondance des trypanosomes dans les vaisseaux du poumon contraste singulièrement avec leur rareté dans les vaisseaux des autres viscères. Cela est, sans doute, dû à ce que les poumons sont, dans un temps donné, traversés par une quantité de sang infiniment plus grande que celle qui traverse les autres organes. Nous avons facilement trouvé des trypanosomes jusque dans les fins capillaires, à peine plus larges

qu'un globule rouge, qui rampent à la surface des alvéoles. Ces trypanosomes n'étaient séparés de la lumière alvéolaire que par la couche endothéliale limitante. Nous n'avons jamais constaté la pénétration des trypanosomes dans l'intérieur des alvéoles. *L'endothélium alvéolaire ne joue donc aucun rôle dans la destruction de T. Lewisi.* Nous rappelons, par comparaison, que SAUERBECK a constaté la pénétration de *T. Brucei* dans les alvéoles des poumons du rat, et la phagocytose de ce trypanosome par l'endothélium alvéolaire.

Le tassement des éléments lymphatiques est tel au niveau des ganglions lombaires qu'on ne peut avoir aucun renseignement utile de l'examen de la couche corticale et du système caveux. Le tissu sous-capsulaire donne seul des renseignements utiles : à son niveau, les cellules lymphatiques sont écartées les unes des autres et les trypanosomes peuvent facilement être mis en évidence. On note leur intégrité parfaite. On trouve également des trypanosomes en parfait état dans les fins capillaires du tissu graisseux qui entoure incomplètement la capsule du ganglion.

La moelle osseuse des fémurs et des tibias n'a été examinée qu'en frottis. Elle contient de rares trypanosomes, tous intacts.

La phagocytose doit être accentuée au niveau de l'épiploon, à la surface duquel nous avons rencontré, dans un réseau de fibrine, un grand nombre de leucocytes parfois littéralement bourrés d'inclusions chromatiques.

En somme, les coupes renseignent sur la distribution topographique des trypanosomes dans les viscères et l'existence dans les leucocytes de nombreuses inclusions chromatiques qui sont vraisemblablement des trypanosomes en voie de digestion. En plus, elles montrent très nettement l'absence de trypanolyse en dehors des globules blancs.

B. — SOURIS RÉCEPTIVES.

MÉCANISME DE LA GUÉRISON. IMMUNITÉ ACTIVE ET PASSIVE.

Il était classique d'admettre jusqu'ici que la souris est réfractaire au *T. Lewisi*. En modifiant expérimentalement ce virus, et, pour employer l'expression de MM. LAVERAN et PETTIT, en le

« renforçant », ROUDSKY, le premier, a pu inoculer en série des souris (1). Il déclare d'ailleurs, avec les auteurs, que cet animal est réfractaire non seulement au virus normal, mais encore aux cultures de celui-ci.

Les faits que nous apportons corroborent les données de ROUDSKY en les élargissant, si on peut ainsi dire. Nous avons pu, en effet, à notre grande surprise, infecter d'emblée des souris avec le *Lewisi* normal, tel qu'on le trouve soit chez un rat d'égout (infection spontanée), soit chez un rat blanc ou pie (infection expérimentale), soit encore dans les cultures (2).

Les souris ont été infectées par inoculation d'une simple goutte de sang prise à la queue d'un rat, soit au moment de la période d'état de l'infection sanguine, soit à celle de la multiplication des parasites. On peut, au lieu de sang, se servir du liquide péritonéal d'un jeune rat récemment inoculé. Le pourcentage des résultats positifs n'est pas plus élevé quand on se sert d'un sang riche en formes de multiplication. Les souris de 7 à 8 grammes ne sont pas plus sensibles que les souris de 15 à 20 grammes.

Nos expériences ont été faites avec 3 origines différentes de *Lewisi*, que nous numérotons 1, 2 et 3. Les *Lewisi* 2 et 3 ont été isolés par nous de rats d'égout. En faisant des inoculations péritonéales à l'aide d'une goutte de sang de rat infecté, sur 26 souris inoculées avec le *Lewisi* 1, nous avons eu 6 résultats positifs; sur 10 souris inoculées avec le *Lewisi* 2, 4 succès; et sur 42 souris inoculées avec le *Lewisi* 3, seulement 5 succès. On peut, de ces 3 séries d'expériences, conclure que les différentes races de *Lewisi* ne sont pas également inoculables d'emblée à la souris; elle peut être complètement réfractaire à certaines races.

La souris peut également être infectée par la voie sous-

(1) *Comptes rendus de la Soc. de Biologie*, 5 et 12 mars 1910, 12 novembre 1910; et *Comptes rendus de l'Acad. des Sciences*, 5 janvier 1911.

(2) Nous avons, pour la première fois, signalé dans les cultures de *T. Lewisi* de petits trypanosomes qui, après fixation humide aux vapeurs osmiques et coloration lente au Giemsa, ont, en moyenne, 7 μ 8 de long sur 1 μ 7 de large. Le blépharoplaste fait souvent saillie tout à l'extrémité postérieure du parasite. Ces petits trypanosomes de culture ressemblent beaucoup aux « small trypanosomes » signalés par SWELLENGREBEL et STRICKLAND dans l'intestin de la puce du rat, *Ceratophyllus fasciatus* Bosc. Consulter à ce sujet la note que nous avons fait paraître à la *Société de Biologie*, séance du 6 mai 1911, p. 804, t. LXX.

cutanée, qui est aussi bonne que la voie péritonéale. Nos injections, pour la plupart, par simple commodité d'étude, ont été faites dans le péritoine.

Nous avons pu infecter des souris en leur inoculant des cultures faites en Novy-Nicolle. Nous avons constamment eu un pourcentage de résultats positifs plus élevé avec les cultures qu'avec le sang du rat. Et cette différence, très certainement, ne tient pas à ce que la dose de culture contenait plus de parasites que celle du sang; car, on n'a pas de résultats meilleurs en inoculant à des souris de fortes doses de virus; l'immunité naturelle, quand elle existe, est, en effet, une immunité très solide, que l'on ne peut faire fléchir en injectant de grandes quantités de trypanosomes. Alors que, sur 26 souris inoculées dans le péritoine avec une goutte de sang à *Lewisi* 1, 6 seulement prennent la maladie, sur 23 souris inoculées dans le péritoine avec des cultures de ce virus, 11 s'infectent. De même, sur 42 souris inoculées avec du sang à *Lewisi* 2, 3 succès; et sur 19 souris inoculées avec les cultures de ce virus, 10 succès. Il faut en conclure que *T. Lewisi* en culture perd un peu de sa spécificité étroite pour le rat, et que, de ce fait, il peut mieux infecter la souris. Rappelons, à ce sujet, que ROUBSKY, dans la première note qu'il a communiquée, indiquait comme idée directrice d'élucider l'influence des passages en milieux de culture sur l'évolution de *T. Lewisi*.

Il nous a semblé que la maladie n'évolue pas chez la souris avec cette régularité ponctuelle que LAVERAN et MESNIL ont fait connaître chez le jeune rat. L'infection du sang se fait soit en même temps, soit après celle du péritoine. La durée de la maladie est très inégale: en moyenne, 15 jours; maximum, 24 jours; minimum, 4 à 5 jours. La disparition des parasites a parfois lieu brusquement; bien plus souvent, elle se fait lentement, progressivement, durant 2 à 3 jours. Les formes de multiplication dans le péritoine et dans le sang sont absolument identiques à celles du rat. A noter dans certains cas la présence, seulement durant la phase de multiplication des parasites, de trypanosomes sans flagelle libre, quoique avec une membrane ondulante bien développée, et surtout de formes à blépharoplaste seul, sans noyau, et qui, à la coloration, nous paraissaient être en parfaite intégrité. Ces formes à

blépharoplaste seul sont toujours très rares, au nombre de 4 ou 5 au plus sur un frottis. Nous avons dernièrement constaté la présence de formes à blépharoplaste seul dans le sang de jeunes rats, pesant 15 grammes, inoculés depuis 5 à 8 jours, en pleine période de multiplication sanguine des parasites.

A la période d'état de l'infection, les trypanosomes, chez la souris comme chez le rat, sont d'une régularité parfaite.

Il est plutôt exceptionnel que l'infection de la souris soit légère. Le plus souvent, il y a abondante multiplication des parasites. Notamment, les rosaces sont, dans le sang, quelquefois si nombreuses qu'on peut en rencontrer avec un objectif 5, jusqu'à 7 à 8 dans un champ microscopique. L'infection trypanosomienne peut, ainsi que l'a signalé ROUDSKY, entraîner la mort. Nous avons observé celle-ci 2 fois sur 233 cas, dont 55 positifs. La multiplication des parasites dans ces 2 cas mortels a duré jusqu'à la mort, survenue 3 et 5 jours après l'inoculation. Le sang était si riche en parasites qu'il était manifestement décoloré, comme un liquide rosé. Aucune bactérie, aérobie ou anaérobie, n'a cultivé. Une fois sur deux, la mort est survenue brusquement, comme chez un rat nagané.

A vrai dire, nous avons observé la mort 5 fois. Seulement, dans 3 cas, le sang des souris mortes nous a fourni sur gélose simple une abondante culture microbienne. En conséquence, nous n'avons pas cru devoir attribuer ces 3 décès à l'infection trypanosomienne.

Comme lésions anatomo-pathologiques macroscopiques, chez les deux souris dont la mort a pu être avec vraisemblance imputée au *T. Lewisii*, nous avons observé une dégénérescence granulo-graisseuse accentuée du foie. Les veines intralobulaires apparaissent sous forme de taches rouge foncé, irrégulièrement arrondies, entourées du tissu lobulaire jaune pâle. La rate était grosse, violacée, très congestionnée. Les reins étaient normaux. Chez une souris, nous avons noté un léger œdème du poumon avec de rares ecchymoses.

A l'examen microscopique, nous avons observé une atteinte profonde de la cellule hépatique. Les cordons de REMAK, comprimés par la dilatation des capillaires, étaient partiellement détruits. Dans les capillaires, nous avons noté une accumulation considérable de leucocytes, formés en majeure partie de

mononucléaires (moyens et gros) et de plasmazellen; pas de mastzellen, pas d'hématies nucléées.

A. PETTIT (1) a montré que, dans diverses trypanosomiasés expérimentales, le foie subit, du fait de l'accumulation de leucocytes, formant manchon autour des vaisseaux hépatiques, une véritable transformation lymphoïde. D. ROUDSKY (2) a observé la même lésion chez les souris inoculées avec le *T. Lewisi* KENT renforcé. Nous n'avons rien constaté de semblable chez les deux souris mortes d'infection trypanosomienne et chez les souris en cours d'infection. L'accumulation des leucocytes a lieu simplement dans les capillaires.

La transformation lymphoïde du foie telle que l'a observée ROUDSKY semble donc bien, ainsi que l'affirme A. PETTIT, répondre à une propriété nouvelle acquise par le *T. Lewisi* KENT renforcé.

Nous ajouterons que les tout jeunes rats inoculés avec le *T. Lewisi* normal ne présentent pas la transformation lymphoïde du foie, même quand ils succombent à l'infection trypanosomienne. Nous en avons observé dernièrement 1 cas très net. Un jeune rat de 15 grammes, inoculé de sang trypanosomé le 9 octobre, meurt le 30 du mois. A l'autopsie, nous notons une transformation granulo-graisseuse accentuée du foie, avec teinte jaune manifeste, mais sans trace aucune de transformation lymphoïde.

Avec le *Lewisi* n° 4, nous n'avons pas réussi les passages en série de souris à souris. Du moins, avons-nous subi des échecs répétés. Nous avons groupé sous forme de tableau les différents résultats que nous avons obtenus.

La guérison survient chez les souris réceptives par phagocytose. Celle-ci, comme chez les souris qui ont d'emblée l'immunité naturelle, est difficile à constater lorsqu'on examine, entre lame et lamelle, le liquide péritonéal de ponction. Les meilleurs renseignements sont fournis par les frottis colorés,

(1) *Comptes rendus de la Soc. de Biologie*, séance du 4 février 1911, t. LXX, p. 165, et *Archives internationales de Pharmacodynamie et de Thérapie*, fasc. 3-4, vol. XXI.

(2) *Loc. cit.*

sur lesquels on peut rencontrer de bonnes figures de phagocytose. Les coupes ne donnent rien de particulier; des inclusions chromatiques dans les mononucléaires de la rate, des poumons, du foie, dans les cellules de Kupffer hyperplasiées.

SÉRIES	NOMBRE DE SOURIS				NOMBRE DE SOURIS INFECTÉES			
	Du 1 ^{er} passage.	Du 2 ^e passage.	Du 3 ^e passage.	Du 4 ^e passage.	Lors du 1 ^{er} passage.	Lors du 2 ^e passage.	Lors du 3 ^e passage.	Lors du 4 ^e passage.
I ^{re} série.	10	6	»	»	4	0	»	»
II ^e série.	6	6	»	»	1	0	»	»
III ^e série.	3	1	»	»	2	1	»	»
IV ^e série.	4	4	6	»	2	2	0	»
V ^e série.	6	4	5	5	3	1	2	0
VI ^e série.	6	12	»	»	1	0	»	»

Les souris qui ont eu une première infection sont toujours réfractaires à une seconde inoculation, quelle que soit la dose de trypanosomes inoculée dans le péritoine. La souris, comme le rat, est donc susceptible de s'immuniser activement à l'égard du *T. Lewisi*.

Nous avons constamment observé que les trypanosomes passent dans le sang lors de la 2^e inoculation. Le fait est plus rare lors de la 3^e inoculation. La 4^e inoculation n'est jamais suivie d'infection sanguine : les parasites sont alors détruits dans la cavité péritonéale même.

Nous avons immunisé nos souris par injection de sang trypanosomé de rat ou de souris. Avec le sang de rat, il faut aller avec prudence et se contenter d'inoculer 1 à 2 gouttes. Les doses plus fortes sont mal supportées, et souvent les souris meurent vers la 6^e et 7^e réinoculation. Il vaut mieux injecter du sang de souris infectée. On n'a pas alors à craindre l'effet

toxique des injections et la phagocytose des globules rouges ne vient pas compliquer celle des trypanosomes. On peut encore immuniser des souris avec du sang de souris, puis au moment où l'on désire étudier le mécanisme de l'immunisation active, inoculer du sang de rat. La destruction des globules rouges du rat est alors tardive, celle des trypanosomes précoce. Les deux phénomènes se succèdent, et on peut les étudier l'un après l'autre.

La plupart de nos recherches sur l'immunité active ont été faites sur des souris qui avaient reçu au minimum 4 à 5 injections.

La première chose qui frappe chez une souris en immunité active est l'agglutination des trypanosomes. Celle-ci a lieu dès que l'injection est faite. Au bout de 2 à 3 minutes, on assiste à la formation de gros amas de trypanosomes, affectant ou non la forme de rosaces. Les trypanosomes, et cela dépend de l'importance du traitement que l'on a fait subir à l'animal, peuvent être simplement agglutinés, et alors à cause de leur mobilité persistante ils se disposent en rosaces (LAVERAN et MESNIL), ou à la fois agglutinés et paralysés. La paralysie n'est d'ailleurs jamais totale. Chez les souris qui ont reçu près de 20 injections, les trypanosomes conservent encore quelques mouvements de la membrane ondulante et du flagelle. *Nous n'avons jamais observé la lyse des trypanosomes en dehors des éléments cellulaires.* L'immunité active de la souris, si poussée soit-elle, fait donc apparaître simplement la propriété agglutinante, jointe ou non à la propriété paralysante.

La destruction des trypanosomes, par phagocytose, chez les souris en immunité active, est facile à observer. La phagocytose est précoce. Déjà 2 à 3 minutes après l'injection, elle est manifeste. Elle est au maximum au bout de 10 à 20 minutes. On voit alors de gros amas de leucocytes, au milieu ou sur le pourtour desquels se rencontrent de nombreux trypanosomes à divers stades d'englobement. Les préparations colorées donnent souvent des déceptions : les amas de leucocytes et de trypanosomes sont si épais qu'ils prennent la coloration d'une manière très intense, et il est alors impossible de les utiliser. Les meilleurs renseignements sont fournis par des leucocytes isolés, ou par les petits amas de leucocytes. On peut

alors étudier tous les stades de la phagocytose, depuis le simple attachement jusqu'à la présence dans le cytoplasme des noyaux et des blépharoplastes, ainsi que de simples enclaves chromatiques.

Nous avons injecté à des souris en immunité active des trypanosomes du sang de rat et de souris, débarrassés par centrifugation des globules rouges et lavés deux fois à l'eau physiologique, ces différentes manipulations ne demandant pas plus d'un 1/4 d'heure à 20 minutes. Nous avons, dans ce cas, constaté très nettement non seulement la phagocytose, mais aussi la destruction extra-cellulaire d'une partie des flagellés. Nous pensons que la centrifugation, si ménagée soit-elle, amène de graves altérations chez beaucoup de flagellés. Certains seraient même, de ce fait, complètement détruits, réduits au flagelle et au blépharoplaste ainsi que l'attestent les frottis du culot de centrifugation colorés au Giemsa. On comprend, étant donné le trouble apporté dans l'équilibre leucocytaire par la piqure abdominale, que les trypanosomes, en voie d'altération grave, puissent continuer à se détruire avant même que la phagocytose se produise.

Quand nous avons étudié l'immunité naturelle, nous avons montré quelles précautions il fallait prendre à l'égard de la ponction du péritoine. Ici, c'est en quelque sorte l'envers de la médaille; et les expériences, rapportées plus haut, montrent quelles précautions il faut prendre vis-à-vis des trypanosomes que l'on injecte.

Pour manifester l'immunité passive, nous avons injecté à des souris neuves d'abord le sérum immunisant (sérum de rat ou de souris) et, 2 à 3 minutes après, le sang trypanosomé (sang de rat ou de souris). Il n'y a aucun inconvénient à injecter les trypanosomes d'abord, le sérum ensuite. Cette technique est préférable à celle qui consiste à injecter en même temps sérum et trypanosomes, mélangés *in vitro*. On évite ainsi la formation de trop gros amas de trypanosomes dus à l'action agglutinante du sérum.

L'immunité passive est exclusivement d'ordre phagocytaire. Ce phénomène saute aux yeux, tout autant que l'agglutination des trypanosomes, quand on inocule une dose forte d'un sérum

immunisant très actif (2 cent. cubes de sérum pour 4 à 5 gouttes de sang trypanosomé). Très rapidement, au bout de 2 à 3 minutes, on constate, par ponction du péritoine, qu'un grand nombre de trypanosomes, demeurés parfaitement mobiles malgré l'action agglutinante, sont piqués sur les leucocytes par leur extrémité postérieure. Les trypanosomes, une fois piqués, ne se maintiennent pas en position plus ou moins perpendiculaire par rapport au leucocyte. Ils sont comme attirés invinciblement vers lui, si bien que tout le corps du flagellé arrive en contact avec le leucocyte. Nous avons pu voir ainsi des amas de 3 ou 4 leucocytes entièrement cernés par une véritable couronne de trypanosomes. Ceux-ci gardent toute leur mobilité. Ils se déplacent, comme en glissant, à la surface des leucocytes sans cependant pouvoir s'en détacher. Pour constater l'englobement du parasite entre lame et lamelle, nous répétons ici ce que nous avons déjà dit : il faut que cet englobement commence dans le péritoine. Il s'achève alors *in vitro*, mais il ne peut se faire intégralement entre lame et lamelle, du moins à la température du laboratoire.

Les leucocytes augmentent rapidement de nombre. Au bout de 20 à 25 minutes, ils forment de gros amas en marge desquels on reconnaît facilement la phagocytose à tous les stades. Les trypanosomes sont détruits en pleine vitalité. Leur disparition est plus ou moins rapide, suivant la quantité de sérum injectée. Avec une dose de sérum faible, égale à celle du sang, on retrouve des trypanosomes vivants et très mobiles 12 à 15 heures après. Avec une dose de sérum forte, en moins de 2 heures, tous les parasites sont détruits.

CONCLUSIONS

Nous pouvons résumer ainsi l'ensemble de notre travail :

1° L'immunité naturelle de la souris à l'égard des cultures de *Leishmania tropica* WRIGHT, de *Leishmania infantum* CH. NICOLLE; de *T. rotatorium* MAYER; de *T. noctuæ* SCHAUDINN; de *T. scardinii* BRUMPT; de *T. phoxini* BRUMPT; de *T. Theileri* LAVERAN et de *T. vespertilionis* BATTAGLIA, est une immunité d'ordre exclusivement phagocytaire. Les flagellés de culture

sont détruits sitôt qu'ils sont injectés dans le péritoine, et leur disparition est très rapide;

2° L'immunité naturelle de la souris à l'égard des cultures de *T. Lewisi* KENT est une immunité d'ordre exclusivement phagocytaire. La défense, dans ce cas, n'a pas seulement lieu dans le péritoine, mais aussi dans tout l'organisme. Dans le péritoine, la phagocytose se fait durant 36 à 48 heures. Elle s'effectue par étapes successives. De là, une réelle difficulté à la manifester. Dans les viscères, les parasites sont très rapidement détruits, si bien qu'on ne les retrouve plus dans les phagocytes qu'à l'état de vestiges tout à fait méconnaissables. Les coupes montrent nettement l'absence de trypanolyse en dehors des globules blancs, ce qui nous porte à considérer la phagocytose comme le seul mode de destruction des parasites;

3° Certaines souris sont susceptibles de s'infecter par le *T. Lewisi* KENT NORMAL. Le pourcentage des souris infectées nous a paru plus élevé quand les inoculations étaient faites avec les cultures;

4° Les souris réceptives acquièrent l'immunité active. Celle-ci est d'ordre exclusivement phagocytaire. Ce fait est d'autant plus saillant que l'immunité active a été elle-même plus poussée;

5° L'immunité passive des souris à l'égard de *T. Lewisi* KENT est d'ordre exclusivement phagocytaire. On s'en rend bien compte quand on inocule une forte dose de sérum immunisant par rapport à celle du sang trypanosomé;

6° Les flagellés sont détruits en pleine vitalité, ce que l'on constate avec la plus grande netteté quand la dernière partie englobée est le flagelle : celui-ci reste alors mobile jusqu'à complète disparition.

EXPLICATION DE LA PLANCHE III

DESSINÉES SUR LE PLAN DE LA TABLE, AVEC UNE CHAMBRE CLAIRE ZEISS, L'OCULAIRE COMPENSATEUR ZEISS N° 4 ET L'OBJECTIF A IMMERSION STIASSNIE 1/15°.

FIGURES 1, 2, 3, 4, 5 et 6. — Différents stades de la phagocytose des flagellés d'une culture de Bouton d'Orient par les mononucléaires de la souris.

FIG. 1. — Le leptomonas est piqué par l'extrême bout du flagelle sur un lymphocyte.

FIG. 2. — Plusieurs leptomonas, dont les flagelles sont déjà englobés, sont piqués sur un lymphocyte.

FIG. 3. — Dans un mononucléaire, on ne voit que le noyau et le blépharoplaste d'un leptomonas dont on ne distingue plus le contour; dans l'autre mononucléaire, un leptomonas renflé en boule et un leptomonas en voie d'englobement.

FIG. 4 et 5. — Mononucléaires avec des vacuoles dont le contenu prend une teinte acidophile quasi homogène. Il s'agit vraisemblablement d'un stade avancé de la phagocytose des leptomonas.

FIG. 6. — Dans le cytoplasme d'un mononucléaire, sous forme de granulations plus ou moins grossières, des enclaves chromatiques qui ne sont peut-être que le stade ultime de la digestion des leptomonas.

FIG. 7. — *Tryp. phoxini* BRUMPT dans le sang du vairon.

FIG. 8 et 9. — Deux trypanosomes de culture de *T. phoxini*. Chez l'un des 2 trypanosomes, le flagelle est en division avant que le blépharoplaste ne se soit divisé. Ce fait est fréquent. Entre lame et lamelle, on se rend compte que les flagelles de nouvelle formation s'agitent violemment, à la manière de véritables microgamètes, ce qui pourrait faire croire à un processus de fécondation.

FIG. 10 et 11. — Formes de culture d'un trypanosome voisin de *T. Theileri* que nous avons isolé des bœufs de France. On remarquera la forme *Leishmania*, que SWELLENGREBEL n'a pu retrouver dans les cultures du trypanosome des bœufs de Hollande.

FIG. 12, 13 et 14. — Phagocytose des flagellés de culture de *T. noctuæ* par les leucocytes de la souris. Préparation faite vingt minutes après avoir mélangé sur lame une goutte de liquide péritonéal de souris et une goutte de culture. La figure 14 représente un polynucléaire qui a phagocyté un élément cultural.

FIG. 15. — Appareils flagellaire et blépharoplastique de *T. Lewisi* détruits en conservant entre lame et lamelle le liquide péritonéal de souris infectées.

FIG. 16. — Amas de leucocytes, dont on voit mal le contour cytoplasmique, et de *T. Lewisi*, à différents stades de phagocytose chez une souris qui a reçu 2 centimètres cubes de sérum immunisant et 1/4 centimètre cube de sang de souris infectée. En dehors des leucocytes, des granulations de Mastzellen.

FIG. 17. — Petits trypanosomes dans les cultures de *T. Lewisi*. On remarquera les petits trypanosomes renflés en boule et qu'on pourrait facilement prendre pour des kystes, n'était la coloration du flagelle.

LES AGGLUTININES ET LES SUBSTANCES SENSIBILISATRICES DES SÉRUMS DYSENTÉRIQUES

par T. GRYGLEWICZ

(Laboratoire du Dr W. Palmirski, à Varsovie.)

La bactériologie de la dysenterie clinique, dans l'état actuel de son développement, considère que cette maladie est causée non seulement par le bacille dysentérique de Shiga-Kruse, mais aussi par les bacilles dénommés pseudodysentériques. Kruse (1) est le premier qui fit la distinction entre le bacille pseudodysentérique et le bacille dysentérique. D'autres auteurs désignent les bacilles pseudodysentériques sous le nom de paradysentériques ou de bacilles de Flexner. Shiga (2), dans son travail récent, les considère comme une variété du bacille dysentérique. La différenciation des bacilles de la dysenterie a été facilitée par Lentz et Martini (3) qui ont employé dans ce but un milieu colorant et un sérum agglutinant de haut pouvoir. Depuis on a observé de nombreux cas sporadiques ainsi que des épidémies entières, provoquées par des bacilles paradysentériques. On les a même retrouvés plus fréquemment que le bacille dysentérique.

Dans ce travail, mes expériences ont porté sur cinq cultures du bacille dysentérique : Shiga de Král, Moscou, Cracovie, Kieff, Varsovie et sur six cultures paradysentériques : Flexner

(1) KRAUSE, Ueber die Ruhr als Volkskrankheit und ihren Erreger. *Deutsche medicinische Vochenschrift*, 1900, n° 40, p. 637. — KRAUSE, Der jetzige Stand der Dysenteriefrage. *Deutsche Ärztezeitung*, 1902, n° 2.

(2) SHIGA, Typen der Dysenteriebacillen, ihr epidemiologisches Verhalten und serotherapeutische Studien. *Zeitschrift für Hygiene und Infektionskrankheiten*, Bd LX, H. 1, 1908, p. 75.

(3) MARTINI und LENTZ, Die Differenzierung der Ruhrbacillen mittels der Agglutination. *Ibidem*, Bd XLI, 1902, p. 540. — LENTZ, Vergleichende kulturelle Untersuchungen über die Ruhrbacillen nebst Bemerkungen über den Lakmusfarbstoff. *Ibidem*, Bd XLI, 1902, p. 559.

de Král, Cracovie, Kieff, Saarbrücken, Müller V, Varsovie I et Varsovie II.

Le tableau ci-dessous donne les résultats de mes expériences sur la faculté des cultures ci-dessus de produire les acides aux dépens de différents hydrates de carbone et de la mannite.

		DEXTROSE	MANNITE	MALTOSE	SACCHAROSE	DEXTRINE	LACTOSE
Cultures du bacille dysentérique.	Shiga de Král	+	—	—	—	—	—
	Moscou	+	—	—	—	—	—
	Cracovie	+	—	—	—	—	—
	Kieff.	+	—	—	—	—	—
	Varsovie	+	—	—	—	—	—
Cultures des bacilles paradysentériques.	Flexner de Král.	+	+	+	+	—	—
	Fl. Cracovie.	+	+	+	—	—	—
	Fl. Saarbrücken.	+	+	+	—	—	—
	Fl. Kieff.	+	+	—	—	—	—
	Fl. Varsovie.	+	+	—	—	—	—

J'ajouterai que dans ces expériences je me servais des plaques de Pétri à l'agar, colorées à l'aide d'asolithmine (1). + désigne que durant 24 à 48 heures

(1) En ce qui concerne la préparation et la technique de l'ensemencement, je les ai indiquées dans mon travail précédent : « W sprawie etyologii dysenterii i jej leczenia surowica. » (L'étiologie de la dysenterie et son traitement par le sérum). *Gazeta lekarska*, 1908, n° 9 = 13, p. 284.

A 100 cent. cubes d'agar ordinaire de laboratoire à 2 p. 100, contenant 2 p. 100 de peptone de Witte, j'ajoute 1,5 gr. d'hydrate de carbone ou de mannite, précédemment dissoute dans une petite quantité d'eau et 0,04 gr. d'asolithmine dissoute dans 1 cent. cube d'eau; je maintiens l'alcalinité de la solution par l'addition d'une ou de deux gouttes de potasse caustique au fur et à mesure du besoin; j'ajoute en plus 1 cent. cube de solution de cristalline violette (1 p. 1000). L'asolithmine est une substance colorante cristalline bleu-violette, soluble dans l'eau, insoluble dans l'alcool et l'éther; sa formule chimique est $C_7H_7NO_4$; comme indicateur de la formation dans le milieu des acides ou des alcalis, elle se comporte comme le lacmus liquide. Une émulsion des bactéries, fortement diluée dans une solution physiologique de NaCl, est ensemencée sur les plaques de Pétri à la surface de ce milieu solide à l'aide d'une baguette en verre, courbée à l'angle obtus.

on a obtenu des colonies nettement rouges; — veut dire que dans cet intervalle de temps les colonies n'ont pas changé la couleur bleue-violette du milieu; Fl = Flexner.

Hiss (1) distingue quatre groupes divers de bacilles parasyntériques, et Shiga (2) y ajoute un groupe nouveau. Les résultats de l'agglutination, obtenus par Hiss et Shiga concordent en règle générale avec cette division. Par contre, Kruse (3) est d'avis que la faculté de décomposition des hydrates de carbone que présentent différentes cultures parasyntériques n'est pas toujours constante, et qu'il est difficile par conséquent de s'en servir comme base de classification des bacilles.

Mes expériences ne font que confirmer l'avis de Kruse. Dans le tableau ci-dessus je n'ai pris en considération qu'une coloration rouge nettement prononcée obtenue en 24 à 48 heures. Les cultures parasyntériques Fl. Cracovie et Fl. Saarbrücken se comportaient à cet égard d'une manière identique; évidemment ces cultures présentaient une étroite parenté sous d'autres rapports encore, cependant leurs agglutinines n'étaient pas identiques, comme on le verra par la suite.

Toutes nos cultures dysentériques ne différaient point de la culture originale de Shiga. Quant aux cultures parasyntériques, elles se distinguaient non seulement par la faculté de décomposition des hydrates de carbone et de la mannite, mais encore par leur propriété de former de l'indol, à l'exception de la culture parasyntérique Varsovie I. J'appelle l'attention sur le fait que la culture parasyntérique de Doerr (4), provenant d'une épidémie à Vienne, ne produisait également pas d'indol; cependant l'auteur, se basant sur ses recherches, l'identifie avec le bacille de Flexner de Manille. Leiner (5) mentionne les cultures parasyntériques caillant le lait en quelques jours. Toutes mes cultures parasyntériques ne caillent point le

(1) HISS, On fermentative and agglutinative characters of bacilli of the dysentery group. *Journ. of med. Research.*, vol. XIII, 1904.

(2) SHIGA, *Loc. cit.*

(3) KRUSE, RITTERHAUS KEMP und METZ, Dysenterie und Pseudodysenterie. *Zeitschrift für Hygiene und Infektionskrankheiten*, 1907, Bd LVII, p. 417.

(4) DOERR, Beobachtungen über bacilläre Dysenterie. *Centralblatt für Bakteriologie und Parasitenkunde*, Bd XXXVIII, 1903, p. 420.

(5) LEINER (CARL), Ueber einige atypische Dysenteriestämme. *Ibidem*, Bd XLIII, 4-8, p. 783.

lait, même en deux semaines à la température de 37 degrés centigrades.

Toutes les cultures dysentériques se distinguaient en outre des cultures paradysentériques par la faculté de produire une vraie toxine soluble, de même que par leur manière de se comporter dans l'organisme du lapin et par les altérations qu'elles produisaient dans le cæcum. J'ai exposé dans mon travail précédent (1) les résultats de mes expériences sur la toxine dysentérique et sur les altérations anatomo-pathologiques qu'elle peut produire.

Pour obtenir des sérums spécifiques, j'immunisai les lapins. L'on sait que les bacilles dysentériques sont éminemment toxiques pour les lapins, c'est pourquoi il était difficile d'obtenir chez eux une immunité bien prononcée; quant à la substance sensibilisatrice, dont il sera question plus loin, elle ne pouvait être retrouvée à l'aide de l'épreuve hémolytique d'après la méthode de Wassermann, que dans le sérum des lapins ayant préalablement supporté l'injection intraveineuse de doses considérables des corps bactériens (1/2 à 1 culture

(1) *Loc. cit.*, p. 183, 203, 233 et 236. J'ai réussi à obtenir une toxine puissante, non seulement des cultures faites dans le bouillon de Martin, mais aussi des cultures faites dans le bouillon ordinaire de veau, contenant 2 p. 100 de peptone de Witte. La plus forte toxine est celle qu'on obtient des cultures faites dans un bouillon neutre ou faiblement alcalin. La dose de toxine mortelle pour un lapin pesant 1.500 gr. atteignait, dans les cultures sur bouillon de trois semaines, jusqu'à 0,04 cent. cubes (en injection intraveineuse). 0,1 cent. cube de filtrat d'une culture de 5 jours, produisait le même effet. Les extraits de corps bactériens, faits par la solution physiologique de NaCl et filtrés sur une bougie Chamberland, possédaient tous les caractères de la toxine obtenue dans le filtrat des cultures sur bouillon. Le sérum des animaux immunisés à l'aide des bactéries avait des propriétés antitoxiques. La toxine et l'antitoxine se neutralisaient proportionnellement (*Gesetz der Multipla*). La toxine dysentérique ressemblait à une vraie toxine soluble. Aussi bien la toxine que les bacilles vivants provoquent chez les lapins, dans le cæcum, des altérations plus ou moins profondes.

Ces altérations, on pourrait les exprimer par la gradation suivante :

1. Hyperémie et tuméfaction de la muqueuse;
2. Hémorragies dans la muqueuse;
3. Formation des exsudats des membranes de fibrine et ulcérations superficielles;
4. Abcès profonds accompagnés d'infiltration de la sous-muqueuse, d'infiltration et d'hypertrophie de la couche musculaire.

J'ai constaté ces altérations chez 45 p. 100 des lapins (28 sur 63) et seulement dans le cæcum.

Quant aux bacilles paradysentériques, ils ne produisaient pas ces altérations et ne formaient pas de toxine soluble.

sur agar). Je commençais l'immunisation par de faibles doses de cultures sur agar, tuées par le chauffage durant une demi-heure à la température de 60 degrés centigrades, et ensuite je passais graduellement aux cultures vivantes. Je débutais par des injections sous-cutanées de l'émulsion bactérienne, passais ensuite aux injections intrapéritonéales et, enfin, aux injections intraveineuses. Malgré toutes les précautions prises, une partie de mes lapins succomba; néanmoins, je suis arrivé à en immuniser la majorité à tel point que, dans l'espace de 3 à 4 mois, ils supportaient parfaitement l'injection intraveineuse d'une, même de deux cultures sur agar. Les bacilles paradysentériques sont, on le sait, peu virulents pour les lapins, l'immunité y pouvait donc être facilement acquise.

De mes expériences ainsi conduites, je ne citerai que celles qui concernent l'agglutination et les antigènes recherchés à l'aide d'hémolyse d'après la méthode de Wassermann.

Je procédais à l'agglutination de la manière suivante :

A 1 cent. cube de sérum, dilué en proportion de 1 p. 25, 1 p. 50, etc., j'ajoutais 1 cent. cube d'émulsion de culture sur agar obtenu en 24 heures dans 2,0 cent. cube d'une solution de NaCl à 0,8 p. 100; je laissais la culture pendant 8 heures à la température de 37 degrés, après quoi je notais les résultats. Pour l'absorption des agglutinines, je me servais des plaques de Petri (9 cent. de diamètre), ensemencées sur toute la surface. Je lavais les cultures de 24 heures sur chaque plaque à l'aide de 2 cent. cubes d'une solution de NaCl à 8 p. 100. Je mêlais 3,5 cent. cubes d'émulsion obtenue de deux plaques à 0,5 cent. cube de sérum non dilué et je tenais le mélange pendant 2 heures à la température de 37 degrés centigrades, et pendant 24 heures à la température de la chambre. Puis je procédais à la centrifugation du liquide trouble; le liquide transparent obtenu servait aux épreuves d'agglutination en tenant compte de la dilution créée par l'absorption $\left(\frac{0,5}{4} = \frac{1}{8}\right)$.

L'exemple suivant prouve, que pour l'absorption de l'agglutinine du bacille dysentérique, des doses beaucoup plus petites de bactéries étaient suffisantes. Un cent. cube de sérum d'un lapin immunisé à l'aide du bacille dysentérique Moscou, fut mélangé avec différentes quantités de corps bactériens du bacille dysentérique Cracovie :

- a) 1 cent. cube de sérum + 2 cent. cubes d'émulsion bactérienne.
- b) 1 cent. cube de sérum + 1 cent. cube d'émulsion bactérienne.
- c) 1 cent. cube de sérum + 0,5 cent. cube d'émulsion bactérienne.

Après 24 heures, on centrifuge les liquides *a*, *b*, *c*, et l'on procède aux épreuves d'agglutination.

CULTURES de bacilles dysentériques.	SÉRUM			
	Avant l'absorption.	Après l'absorption.		
		<i>a</i>	<i>b</i>	<i>c</i>
Shiga de Král	1.500	0	0	50
Cracovie	1.500	0	0	100
Moscou.	500	0	0	0
Kieff	500	0	0	0
Varsovie	800	0	0	100

Les chiffres indiquent la plus forte dilution du sérum à laquelle l'agglutination était encore possible; 0, qu'à la dilution de 1/30 l'agglutination ne se faisait plus; — que l'épreuve n'était pas faite. Les mêmes signes ont été conservés dans d'autres tableaux concernant l'agglutination.

Cet exemple prouve qu'un cent. cube d'émulsion, contenant approximativement une quantité de bactéries correspondant à la moitié d'une plaque en agar, suffisait complètement pour l'absorption de l'agglutinine d'un cent. cube de sérum.

Par contre, les agglutinines des bacilles paradysentériques, surtout les agglutinines collatérales, étaient absorbées par les bactéries beaucoup plus difficilement, de sorte que souvent 3,5 cent. cubes d'émulsion de deux plaques étaient insuffisantes pour l'absorption de l'agglutinine de 0,5 cent. cube de sérum (1). Dans ces cas, je répétais l'absorption des liquides soumis à la centrifugation après la première absorption.

Toutes ces expériences d'agglutination étaient exécutées macroscopiquement. Si après l'absorption la quantité de liquide nécessaire à l'agglutination était très petite, j'exécutais les essais dans les tubes minces, en utilisant non pas 1 cent. cube entier de la dilution du liquide, mais 0,3 ou 0,4 cent. cube, en y ajoutant

(1) Pour les relations entre l'agglutinogène et l'agglutinine, voir le travail d'Eisenberg et de Volk : « Untersuchungen über die Agglutination », *Zeitschrift für Hygiene und Infektionskrankheiten*, Bd XL, 1902, p. 155.

la même quantité d'émulsion d'une culture sur agar dans 12 cent. cubes d'une solution de NaCl à 0,8 p. 100.

AGGLUTININES DES SÉRUMS DES LAPINS
IMMUNISÉS PAR LES CULTURES DU BACILLE DYSENTÉRIQUE.

TABLEAU I. — **Sérum du lapin,**
immunisé par le bacille dysentérique Cracovie.

Cultures des bac. paradysentériques.	Cultures du bac. dysentériques.	APRÈS L'ABSORPTION PAR LES CULTURES													
		AVANT L'IMMUNISATION		APRÈS L'IMMUNISATION		Sérum.									
		Shiga de Král.	Moscou.	Cracovie.	Kieff.	Varsovie.	Flexner de Král.	Fl. Cracovie.	Fl. Kieff.	Fl. Saarbrücken.	Fl. Varsovie I.	Fl. Varsovie II.			
	Shiga de Král . . .	0	1500	0	0	0	0	0	1500	1500	1500	1500	1500	1500	
	Moscou.	0	500	0	0	0	0	0	500	500	500	500	500	500	
	Cracovie	0	1500	0	0	0	0	0	1500	1500	1500	1500	1500	1500	
	Kieff	0	500	0	0	0	0	0	500	500	500	500	500	500	
	Varsovie	0	900	0	0	0	0	0	900	900	900	900	900	900	
	Flexner de Král . .	0	50	0	0	0	0	0	0	50	50	0	0	50	
	Fl. Cracovie	0	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
	Fl. Kieff	0	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
	Fl. Saarbrücken . .	0	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
	Fl. Varsovie I . . .	0	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
	Fl. Varsovie II . . .	0	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	

Les résultats furent identiques avec le sérum du lapin immunisé par le bacille dysentérique Moscou, et avec le sérum du lapin immunisé par le bacille Kieff, c'est pourquoi je ne donne point de tableau correspondant à ces expériences.

Il résulte de ces expériences que le sérum de lapin convient particulièrement pour la distinction des bacilles dysentériques et paradysentériques. Les premiers ne font presque pas naître, dans l'organisme du lapin, d'agglutinines collatérales pour les b. paradysentériques. En même temps, ces expériences prou-

vent que toutes les cultures dysentériques, de provenances diverses, sont parfaitement identiques au point de vue de l'agglutination. Parmi les bacilles expérimentés, quelques-uns seulement avaient une faculté d'agglutination moindre (Moscou, Kieff). Le sérum des lapins, immunisés par une culture quelconque du bacille dysentérique, acquiert la propriété d'agglutiner toutes les cultures du même bacille.

TABLEAU H. — Sérum du lapin,
immunisé par le bacille dysentérique Varsovie.

Culture des bac. paradysentériques.	Culture du bac. dysentérique.		APRÈS L'ABSORPTION PAR LES CULTURES												
			AVANT L'IMMUNISATION		APRÈS L'IMMUNISATION		Sérum.								
			Shiga de Král.	Moscou.	Cracovie.	Kieff.	Varsovie.	Flexner de Král.	Fl. Cracovie.	Fl. Kieff.	Fl. Saarbrücken.	Fl. Varsovie I.	Fl. Varsovie II.		
		Shiga de Král . . .	0	1800	0	0	0	0	0	1800	1800	1800	1800	1800	1800
		Moscou	0	600	0	0	0	0	0	600	600	600	600	600	600
		Cracovie	0	1500	0	0	0	0	0	1500	1500	1500	1500	1500	1500
		Kieff.	0	500	0	0	0	0	0	500	500	500	500	500	500
		Varsovie.	0	1200	0	0	0	0	0	1200	1200	1200	1200	1200	1200
		Flexner de Král . .	0	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		Fl. Cracovie	0	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		Fl. Kieff.	0	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		Fl. Saarbrücken. .	0	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		Fl. Varsovie I. . .	0	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		Fl. Varsovie II. . .	0	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Les sérums des lapins immunisés ne montrent presque aucune parenté entre les cultures dysentériques et paradysentériques. Par contre, le sérum des chevaux immunisés par le bacille dysentérique, contient en général des quantités notables d'agglutinines collatérales pour les bacilles paradysentériques.

Dans les expériences d'Eisenberg (1), le sérum d'un cheval immunisé exclusivement par le bacille dysentérique Shiga, avait la propriété d'agglutiner le bacille dysentérique en dilution de 1/1.200 à 1/2.400, et le bacille paradysentérique de Flexner en dilution de 1/600. Dans les expériences d'absorption, l'agglutinine du bacille Flexner montrait les propriétés de l'agglutinine collatérale : les cultures des bacilles dysentériques absorbaient du sérum leur propre agglutinine aussi bien que l'agglutinine du bacille de Flexner; quant aux cultures du bacille Flexner, elles n'absorbaient que leur agglutinine sans changer le pouvoir agglutinatif par rapport aux bacilles dysentériques.

Dans mes expériences personnelles, le sérum d'un cheval, immunisé par les cultures dysentériques de trois semaines sur bouillon, agglutinait les diverses cultures de ce bacille en dilution de 1/750 à 1/1.200, et les bacilles paradysentériques en dilution de 1/50 à 1/100. Les cultures dysentériques absorbaient de ce sérum, à côté de l'agglutinine principale, les agglutinines collatérales des cultures paradysentériques. Je dois remarquer que le sérum de ce cheval n'était pas examiné avant l'immunisation; or, dans les expériences faites sur le sérum des quinze chevaux non immunisés, le sérum de quatre d'entre eux agglutinait les diverses cultures de bacilles paradysentériques en dilution de 1/60 à 1/120. Ces sérums n'agglutinaient jamais les bacilles dysentériques en dilution supérieure à 1/10-1/20.

Eisenberg (*loc. cit.*) mentionne le sérum d'un cheval non immunisé, qui agglutinait le bacille paradysentérique avec lequel il expérimentait, en dilution de 1/375.

Les tableaux (III, IV, V, VI) nous montrent que le sérum des lapins immunisés par les bacilles paradysentériques ne contenait point d'agglutinine pour des cultures dysentériques, et que celles-ci étaient incapables d'absorber de ce sérum les agglutinines des cultures paradysentériques. Quant à la littérature sur la question, je n'ai trouvé un résultat un peu dif-

(1) EISENBERG (FILIP), O pokrewieństwie obu typow bakteryi ezerwonkowych na podstawie odezynow biologicznych. (De la parenté de deux types de bacilles dysentériques, basée sur leurs propriétés biologiques.) *Przegląd lekarski*, 1904, n° 20.

fèrent [que dans une expérience de Kruse (1). Le sérum d'un lapin immunisé par le bacille paradysentérique « Constantinople A » agglutinait ce bacille en dilution de 1/100.000, et le bacille dysentérique en dilution de 1/100 (expérience microscopique).

AGGLUTININES DES SÉRUMS DES LAPINS
IMMUNISÉS PAR LES CULTURES PARADYSENTÉRIQUES.

TABLEAU III. — Sérum du lapin,
immunisé par le bacille paradysentérique Fl. Kral.

Cultures du bac. dysentérique.		AVANT L'IMMUNISATION	APRÈS L'IMMUNISATION	APRÈS L'ABSORPTION PAR LES CULTURES							
				Shiga de Král.	Moscou.	Cracovie.	Kieff.	Flexner de Král.	Fl. Cracovie.	Fl. Kieff.	Fl. Saarbrücken.
				Sérum.							
	Shiga de Král. . . .	0	0	—	—	—	—	—	—	—	—
	Moscou.	0	0	—	—	—	—	—	—	—	—
	Cracovie	0	0	—	—	—	—	—	—	—	—
	Kieff	0	0	—	—	—	—	—	—	—	—
Culture des bac. parady- sentériques.	Flexner de Král . .	0	500	500	500	500	500	0	500	500	0
	Fl. Cracovie	0	300	300	300	300	300	0	0	300	0
	Fl. Kieff	0	0	—	—	—	—	—	—	—	—
	Fl. Saarbrücken . .	0	500	500	500	500	500	0	500	500	0

Dans mes expériences, la culture paradysentérique Fl. Kieff (tableau V) se comportait d'une manière toute particulière. Le sérum des lapins immunisés par les cultures Fl. Král, Fl. Cracovie et Fl. Saarbrücken (tableaux III, IV, VI) n'agglutinait point cette culture. Mais le sérum du lapin immunisé par la culture Fl. Kieff (tableau V) agglutinait toutes les cultures para-

(1) KRUSE, RITTERHAUS, KEMP et METZ, *loco citato*, p. 439.

dysentériques à l'exception des cultures Fl. Varsovie I, Fl. Varsovie II.

Les cultures paradysentériques dont on se servait pour immuniser les lapins, absorbaient de leur sérum, à côté de leur agglutinine principale, des agglutinines collatérales appartenant aux autres cultures (tableaux III, IV, VI). Le résultat est différent dans le tableau V. La culture Fl. Kieff n'absorbait de son sérum que son agglutinine propre, sans absorber celle des cultures Fl. Král, Fl. Cracovie et Fl. Saarbrücken.

Il serait difficile d'expliquer d'une manière satisfaisante ces relations entre les agglutinines de diverses cultures paradysentériques dans ce sérum.

TABLEAU IV. — Sérum du lapin,
immunisé par le bacille paradysentérique Fl. Cracovie.

Cultures des bac. paradysentériques.	Cultures du bac. dysentérique.	APRÈS L'ABSORPTION PAR LES CULTURES											
		AVANT L'IMMUNISATION	APRÈS L'IMMUNISATION	Shiga de Král.	Moscou.	Cracovie.	Kieff.	Varsovie.	Flexner de Král,	Fl. Cracovie.	Fl. Saarbrücken.	Fl. Varsovie I.	Fl. Varsovie II.
		Sérum.											
	Shiga de Král. . . .	0	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Moscou	0	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Cracovie	0	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Kieff	0	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Varsovie	0	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Flexner de Král. . .	0	150	150	150	150	150	150	0	0	0	0	0
	Fl. Cracovie. . . .	0	4000	4000	4000	4000	4000	4000	4000	0	0	4000	4000
	Fl. Kieff.	0	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Fl. Saarbrücken. .	0	1500	1500	1500	1500	1500	1500	1500	0	0	1500	1500
	Fl. Varsovie I. . .	0	300	300	300	300	300	300	0	0	0	0	0
	Fl. Varsovie II. . .	0	800	800	800	800	800	800	800	0	0	0	0

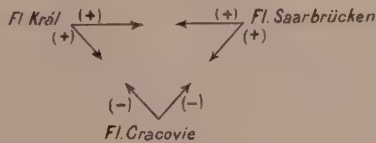
TABLEAU V. — Sérum du lapin
immunisé par le bacille paradysentérique Fl. Kieff.

Cultures du bac. dysentérique.	Shiga de Král.	Moscou	Cracovie	Kieff	Varsovie	APRÈS L'ABSORPTION PAR LES CULTURES												
						AVANT L'IMMUNISATION		APRÈS L'IMMUNISATION		Shiga de Král.	Moscou.	Cracovie.	Kieff.	Varsovie.	Flexner de Král.	Fl. Cracovie.	Fl. Kieff.	Fl. Saarbrücken.
Cultures des bac. paradysentériques.	Flexner de Král. . .	Fl. Cracovie. . . .	Fl. Kieff.	Fl. Saarbrücken. .	Fl. Varsovie I. . .	Fl. Varsovie II. . .	Sérum.											
	0	100	400	300	0	0	100	100	1000	300	0	100	100	0				
	0	400	400	300	0	0	400	400	1000	400	0	400	400	0				
	0	1000	1000	300	0	0	1000	1000	1000	1000	300	0	1000	1000				
	0	300	300	300	0	0	300	300	300	300	0	300	300	0				
	0	0	—	—	0	0	—	—	—	—	—	—	—	—				
	0	0	—	—	0	0	—	—	—	—	—	—	—	—				

Le rapport entre les agglutinines des sérums particuliers, correspondant aux cultures paradysentériques Fl. Král, Fl. Cracovie et Fl. Saarbrücken (tableaux III, IV, VI) pourrait être exprimé schématiquement comme suit :

TABLEAU III. — Sérum Fl. Král (voir p. 213).

Schéma 1.



Ce schéma montre que la culture Fl. Král absorbait de ce

sérum l'agglutinine Fl. Cracovie et Fl. Saarbrücken; la culture Fl. Saarbrücken absorbait les agglutinines des cultures Fl. Král et Fl. Cracovie; quant à la culture Fl. Cracovie, elle n'absorbait ni l'agglutinine de la culture Fl. Král, ni celle de la culture Fl. Saarbrücken.

TABLEAU VI. — Sérum du lapin,
immunisé par le bacille paradysentérique Fl. Saarbrücken.

Cultures des bac. paradysentériques.	Cultures du bac. dysentérique	APRÈS L'ABSORPTION PAR LES CULTURES									
		AVANT L'IMMUNISATION	APRÈS L'IMMUNISATION	Shiga de Král.	Moscou.	Cracovie.	Kieff.	Flexner de Král.	Fl. Cracovie.	Fl. Kieff.]	Fl. Saarbrücken.
[Sérum.											
	Shiga de Král . . .	0	0	—	—	—	—	—	—	—	—
	Moscou.	0	0	—	—	—	—	—	—	—	—
	Cracovie	0	0	—	—	—	—	—	—	—	—
	Kieff	0	0	—	—	—	—	—	—	—	—
Cultures des bac. paradysentériques.	Flexner de Král . .	0	500	500	500	500	500	0	500	500	0
	Fl. Cracovie	0	400	400	400	400	400	400	0	400	0
	Fl. Kieff	0	0	—	—	—	—	—	—	—	—
	Fl. Saarbrücken . .	0	600	600	600	600	600	600	600	600	0
	Fl. Varsovie I . . .	0	300	—	—	—	—	—	—	—	—
	Fl. Varsovie II. . .	0	300	—	—	—	—	—	—	—	—

TABLEAU IV. — Sérum Fl. Cracovie (v. p. 214).

Schéma 2.

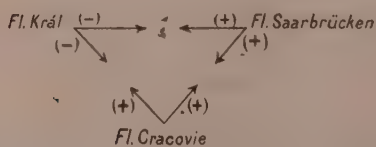
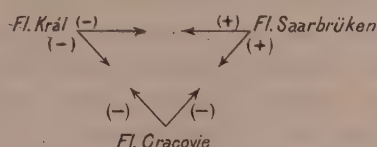


TABLEAU VI. — Sérum Fl. Saarbrücken (voir p. 216).

Schéma 3.



Le rapport exprimé dans ces schémas pourrait être expliqué en supposant trois récepteurs agglutinatifs *a*, *b*, *c*, groupés comme suit :

Flexner de Král.	<i>a</i> , <i>b</i> .
Fl. Cracovie.	<i>b</i> , <i>c</i> .
Fl. Saarbrücken.	<i>a</i> , <i>b</i> , <i>c</i> .

Le sérum du lapin immunisé par la culture Fl. Král (tableau III, schéma 1), contient les agglutinines correspondant aux récepteurs *a* et *b*; il agglutine donc également les cultures Fl. Cracovie et Fl. Saarbrücken, qui contiennent un de ces récepteurs ou tous les deux. La culture Fl. Cracovie n'absorbe point des agglutinines de ce sérum, correspondant aux cultures Fl. Král et Fl. Saarbrücken, car elle n'a que le récepteur *b* et qu'elle est dépourvue du récepteur *a*. La culture Fl. Saarbrücken, ayant les deux récepteurs *a* et *b*, absorbe les agglutinines de deux cultures Fl. Král et Fl. Cracovie. Le schéma 2 s'explique de la même manière (tableau IV); il en est de même du schéma 3 (tableau VI).

Il suffit d'admettre l'existence de trois récepteurs agglutinogènes *a*, *b* et *c* pour expliquer les résultats acquis. Il n'est pas impossible que nous puissions trouver encore dans lesdites cultures, d'autres récepteurs agglutinogènes en examinant, à l'aide des sérums agglutinants, leurs relations avec les autres cultures paradysentériques. On peut en tirer la conséquence, qu'on ne doit point identifier deux cultures paradysentériques, en se basant uniquement sur leur manière de se comporter par rapport à un seul sérum agglutinant. Ce n'est que leur manière de se comporter par rapport aux agglutinines de plusieurs animaux, dont chacun fut immunisé par une autre culture para-

dysentérique, qui permet de se prononcer sur l'identité ou la différence des deux cultures comparées.

A en juger d'après le schéma 4, les cultures Fl. Král et Fl. Saarbrücken pourraient être supposées identiques; cependant, le schéma 2 et le schéma 3 montrent qu'elles diffèrent par leurs récepteurs agglutinogènes. Il en est de même des cultures Fl. Cracovie et Fl. Saarbrücken. Le schéma 2 les ferait identifier, tandis que les schémas 1 et 3 indiquent leur différence.

Chacune des six cultures paradysentériques que j'ai étudiées avait un groupe particulier de récepteurs agglutinogènes. Quelques-uns d'entre eux étaient communs à la plupart des cultures paradysentériques. L'immunisation à l'aide d'une seule culture faisait naître, dans l'organisme animal, des agglutinines collatérales pour d'autres cultures, ayant un ou deux récepteurs agglutinogènes communs. Toutes ces cultures paradysentériques n'étaient pas identiques malgré l'étroite parenté qui les unissait.

En ce qui concerne les cultures dysentériques, nous pouvons affirmer catégoriquement que toutes ces cultures sont identiques, indépendamment de leur provenance.

Les sérums paradysentériques des lapins immunisés n'agglutinaient jamais les cultures dysentériques. Les sérums dysentériques ne contenaient que rarement des quantités insignifiantes d'agglutinines collatérales dans certaines cultures paradysentériques (voir tableau I).

Ceci dit, je passe à la question des substances sensibilisatrices des sérums dysentériques et paradysentériques, autrement dit, à la question de la *fixation du complément par les extraits bactériens à l'aide des sérums spécifiques*. Bordet (1) identifie la substance sensibilisatrice découverte par la méthode hémolytique, avec les bactériolisines de Pfeiffer et les ambocepteurs d'Ehrlich. Wassermann et Bruck (2) ont modifié la technique de la fixation du complément par les bactéries à l'aide des

(1) BORDET, Les sérums hémolytiques, leurs antitoxines et les théories des sérums cytolytiques. *Annales de l'Institut Pasteur*, 1900, p. 237.

(2) WASSERMANN und BRUCK, Ist die Komplementbindung beim Entstehen spezifischer Niederschläge eine mit der Präcipitierung zusammenhängende Erscheinung oder Amboceptorenwirkung? *Medizinische Klinik*, 1905, n° 55.

sérums spécifiques et ont appliqué, au lieu de l'émulsion bactérienne, des extraits aqueux des corps bactériens. Tout récemment, quelques auteurs ont supposé que dans des expériences exécutées d'après la méthode de Bordet-Gengou ou d'après celle de Wassermann, la *déviatiou du complément* ne dépend pas toujours de sa *fixation* par les corps bactériens ou leurs extraits à l'aide de l'ambocepteur [Moreschi (1), Neufeld et Hüne (2), Wassermann et Luchs (3), Krumbein et Schatilloff (4), Ballner et Reibmayr (5)]. La formation du précipité n'est pas sans influence sur le complément [Pfeiffer et Moreschi (6), Moreschi (7)]. Les travaux de B. Zebrowski sur cette question sont également d'une haute importance (8-9). Il a démontré que la précipitine ne précipite pas l'ambocepteur hémolytique dans le sérum.

Le phénomène de la déviation du complément, dans les expériences hémolytiques de Wassermann, concernant les sérums spécifiques et les extraits bactériens, n'est pas jusqu'ici théoriquement étudié. Les expériences de Wassermann ont démontré la spécificité complète des sérums correspondants, au moins en ce qui concerne le typhus et le paratyphus. J'ai appliqué les mêmes expériences aux bacilles dysentériques.

En ce qui concerne la dysenterie, je ne connais que le travail

(1) MORESCHI, Ueber den Wert des Komplementablenkungsverfahrens in der bakteriologischen Diagnostik. *Berliner klinische Wochenschrift*, 1907, n° 38.

(2) NEUFELD und HUNE, Untersuchungen über baktericide Immunität und Phagocytose nebst Beiträgen zur Frage der Komplementablenkung. *Arbeiten aus der Kaiserl. Gesundheitsamte*, Bd XXV, p. 192.

(3) WASSERMANN und LUCHS, Erwiderung auf die Arbeit von Moreschi. *Berliner klinische Wochenschrift*, 1907, n° 49, p. 1506.

(4) KRUMBEIN und SCHATILOFF, Untersuchungen über das Meningococcenserum. *Deutsche medicinische Wochenschrift*, n° 23, p. 1002.

(5) BALLNER und REIBMAYR, Ueber die Verwertbarkeit der Komplementablenkungsmethode für die Differenzierung von Mikroorganismen, nebst Bemerkungen über den Zusammenhang dieses Phänomens mit der Agglutinations- bezw. Präcipitationsreaktion. *Archiv für Hygiene*, 1908, Bd LXIV, p. 113.

(6) PFEIFFER und MORESCHI, Ueber scheinbare antikomplementäre und Anti-amboceptorenwirkungen präcipitirender sera im Thierkörper. *Berliner klinische Wochenschrift*, 1906, n° 2.

(7) MORESCHI, Zur Lehre der Antikomplementen. *Ibidem*, 1906, p. 100.

(8) ZEBROWSKI (B.), Precipitation et deviation de l'alexine. *Centralblatt für Bakteriologie und Parasitenkunde*, 1907, Bd XLIV, p. 536.

(9) ZEBROWSKI (B.), Ostosunku substancji uczulajacej hemolitycznej do precipitynogeny. *Gazeta lekarska*, 1907, n° 38, p. 900.

de Dopter (1), qui touche à cette question. L'auteur a employé la méthode de Bordet-Gengou, en examinant le sérum des animaux immunisés (cheval, lapin) et des hommes atteints de dysenterie provoquée par le bacille dysentérique ou par les variétés des bacilles paradysentériques. Les sérums dysentériques et paradysentériques déviaient d'une manière identique le complément, étant unis soit à l'émulsion des bacilles dysentériques, soit à celui des cultures paradysentériques. Le phénomène se produisait même avec l'émulsion de certaines cultures de coli-bacille. Se basant sur les résultats acquis, Dopter identifie presque toutes les cultures dysentériques et paradysentériques; il ne les considère que comme « races » particulières d'un seul et même bacille, faisant naître la dysenterie chez l'homme.

Quant à nos expériences, exécutées d'après la méthode de Wassermann, elles n'ont point démontré d'aussi étroite parenté des diverses cultures dysentériques et paradysentériques.

J'ai préparé mes extraits aqueux d'après la méthode de Wassermann. A l'aide de 5 cent. cubes d'eau distillée stérile, j'ai lavé les cultures de 24 heures sur 140 cent. cubes d'agar. Les sérums correspondants précipitaient ces extraits, mais la précipitation ne se produisait qu'en dilution faible; or, les mélanges des sérums et des extraits en dilutions, dont on se sert dans les expériences de fixation du complément, restaient parfaitement limpides, même dans un temps prolongé.

Les sérums des lapins, dont chacun fut vacciné par une seule culture dysentérique ou paradysentérique étaient préalablement chauffés pendant une demi-heure à 56 degrés centigrades. Je me servais comme complément du sérum frais des cobayes, au plus tard 24 heures après la saignée.

J'ai préparé les sérums hémolytiques en immunisant les lapins à l'aide des globules rouges du bœuf. Les globules rouges, servant aux injections des lapins et aux épreuves hémolytiques, étaient soigneusement lavés avec une solution de NaCl à 0,9 p. 100. J'ai chauffé également les sérums hémolytiques à 56 degrés centigrades pendant une demi-heure.

(1) DOPTER, Sensibilisatrice spécifique dans le sérum des animaux vaccinés et de malades. *Annales de l'Institut Pasteur*, 1905, p. 753.

Toutes ces dilutions se faisaient dans une solution de NaCl à 0,9 p. 100. Je me servais toujours d'un centimètre cube des dilutions des extraits bactériens, des sérums spécifiques du sérum hémolytique et de l'émulsion des globules rouges à 5 p. 100 en solution dans le NaCl à 0,9 p. 100. J'ai ajouté à toutes ces épreuves le complément non dilué, soit 0,1 cent. cube. Le volume du mélange était donc le même dans tous ces essais et égal à 4,1 cent. cubes. Dans chaque expérience, je me servais des globules rouges frais. Chacune d'elles était exécutée durant un jour. Chaque fois, les doses de contrôle étaient préalablement déterminées ainsi qu'il suit :

1° La plus petite dose du sérum hémolytique dissolvant complètement les globules rouges à l'aide de 0,1 cent. cube du complément (D. M. S. = *dosis minimalis solvens*).

2° La dose maximale du sérum spécifique du lapin, qui ne dévie pas par elle-même le complément (D. max. non abs. S. = *dosis maximalis non absorbens seri*);

3° La dose maximale d'extrait bactérien, ne déviant pas le complément par elle-même (D. max. non abs. E. = *dosis maximalis non absorbens extracti*).

Sur les vingt expériences ainsi exécutées, je n'en citerai que deux comme exemple : l'une concernant le sérum du lapin immunisé par le bacille dysentérique Cracovie, l'autre concernant le sérum du lapin immunisé par le bacille dysentérique Kieff.

Exp. III. — Le lapin fut immunisé par le bacille dysentérique Cracovie et il a reçu, depuis le 27 août jusqu'au 28 décembre 1907, des injections sous-cutanées, intrapéritonéales et intraveineuses, contenant au total l'émulsion de 10 cultures sur agar. Pour la première fois, l'injection sous-cutanée de 2 milligrammes d'une culture sur agar, tuée à la température de 60 degrés centigrades, provoqua chez un lapin, pesant 4.000 grammes, une maladie sérieuse d'une durée de deux semaines. Un autre lapin, ayant reçu la même dose de culture Moscou, succomba après quatre jours. En continuant la vaccination très prudemment, je suis arrivé à faire supporter au lapin des injections intraveineuses d'une et même de deux cultures sur agar.

1° Définition de la force du sérum hémolytique (D. M. S.).

QUANTITÉ de sérum hémolytique, dans 1 centimètre cube.	QUANTITÉ de solution de NaCl à 0,9 p. 100 ajoutée.	QUANTITÉ de complément.	QUANTITÉ D'ÉMULSION des globules rouges de bœuf à 5 p. 100.	RÉSULTATS
0,01	2,0	0,1	1,0	Hémolyse complète.
0,005	»	»	»	»
0,0025	»	»	»	»
0,001	»	»	»	»
0,0005	»	»	»	Hémol. presque complète
0,00025	»	»	»	Hémolyse incomplète.
—	»	»	»	0 (1)
0,01	»	»	»	0

(1) 0 indique que les globules rouges restent parfaitement insolubles.
D. M. S. = 0,001.

Le complément et le sérum hémolytique eux-mêmes ne faisaient pas dissoudre les globules rouges.

2° Détermination de la dose maximale du sérum spécifique ne déviant pas par elle-même le complément.

QUANTITÉ de sérum spécifique dans 1 cent. cube.	QUANTITÉ de solution de NaCl à 0,9 p. 100 ajoutée.	QUANTITÉ de complément.		QUANTITÉ de sérum hémolytique dans 1 cent. cube.	QUANTITÉ D'ÉMULSION des glob. rouges de bœuf à 5 p. 100.	RÉSULTATS
0,2	1,0	1,0	4 h. à la tempér. de 37° C.	0,002	1,0	Hémolyse incomplète.
0,1	»	»		»	»	Hémolyse complète.
0,05	»	»		»	»	»
0,2	»	—		»	»	0

Le sérum spécifique par lui-même, ne dissout pas les globules rouges.

3° Détermination des doses maximales d'extraits des cultures dysentériques Cracovie et Kieff et paradysentérique Fl. Cracovie, qui par elles mêmes ne déviaient pas le complément.

QUANTITÉ D'EXTRAIT dans 1 centimètre cube.	QUANTITÉ DE SOLUTION de NaCl à 0,9 p. 100 ajoutée	QUANTITÉ DE COMPLÉMENT		QUANTITÉ DE SÉRUM HÉMOCLYTIQUE dans 1 centimètre cube.	QUANTITÉ D'ÉMULSION des glob. rouges de boeuf à 0,5 p. 100.	RÉSULTATS		
						EXTRAITS DE CULTURES :		
						Cracovie.	Kieff.	Fl. Cracovie.
0,16	1,0	0,1		0,002	1,0	H. très faible.	H. très faible.	H. très faible.
0,12	»	»		»	»	Hém. incomp.	Hém. incomp.	Hém. incomp.
0,1	»	»		»	»	Hém. incomp.	Hém. incomp.	Hém. incomp.
0,08	»	»		»	»	Hém. compl.	Hém. compl.	Hém. compl.
0,06	»	»		»	»	»	»	»
0,1	»	»	1 h. à la temp. de 37° cent.	»	»	0	0	0

D. max. non abs. E :

Cracovie	0,08 — 0,1
Kieff.	0,08 — 0,1
Fl. Cracovie	0,08 — 0,1

Les extraits par eux-mêmes ne dissolvent point les globules rouges.

Cette expérience nous prouve que le sérum du lapin, immunisé par la culture dysentérique Cracovie, a fixé le complément à l'aide des extraits des cultures dysentériques Kieff et Cracovie, sans le fixer cependant avec l'extrait de la culture paradysentérique Fl. Cracovie.

Exp. XVIII. — Le lapin fut immunisé par le bacille paradysentérique Fl. Kieff. Depuis le 2 janvier jusqu'au 8 mars 1908, il a reçu des injections sous-cutanées, intrapéritonéales et intraveineuses au nombre de 10 cultures sur agar. A la fin de l'immunisation, il supportait bien une culture sur agar en injection intraveineuse.

4° Fixation du complément par les extraits bactériens à l'aide du sérum immunisé.

QUANTITÉ D'EXTRAIT dans 1 centimètre cube.		QUANTITÉ DE SÉRUM SPÉCIFIQUE dans 1 centimètre cube.		QUANTITÉ DE COMPLÉMENT		QUANTITÉ DE SÉRUM HÉMOLYTIQUE dans 1 centimètre cube.		QUANTITÉ D'ÉMULSION des glob. rouges du bœuf, à 5 p. 100.		RÉSULTATS		
										EXTRAITS DE CULTURES :		
										Cracovie.	Kieff.	Fl. Cracovie.
0,02	0,05	0,1	1 heure à la temp. de 37° centigr.	0,002	1,0	0	0	Hém. compl.				
»	0,02	»		»	»	0	0	»				
»	0,01	»		»	»	0	0	»				
»	0,0075	»		»	»	Trace d'hém.	Trace d'hém.	»				
»	0,005	»		»	»	Hém. incomp.	Hém. incomp.	»				
»	0,05	—		»	»	0	0	0				
Le sérum contrôlant d'un lapin non immunisé A.												
0,02	0,075	0,1	1 h. à la temp. de 37° cent.	0,002	1,0	Hém. compl.	Hém. compl.	Hém. compl.				
»	0,05	»		»	»	»	»	»				
»	0,075	—		»	»	0	0	0				
—	0,075	0,1		»	»	Hém. compl.	Hém. compl.	Hém. compl.				

Dans cette expérience, on a mis à l'épreuve les extraits aqueux des trois cultures paratyphériques : Fl. Kieff, Fl. Cracovie et Fl. Saarbrücken (1).

1° D.M.S. du sérum hémolytique	0,002
2° D. max. non abs. S	0,1 — 0,2
3° D. max. non abs. E. :	
Fl. Kieff.	0,1 — 0,12
Fl. Cracovie.	0,1 — 0,12
Fl. Saarbrücken.	0,08 — 0,1

(1) Toutes mes autres expériences furent exécutées d'après les schémas présentés dans les expériences III et XVIII. Les doses maximales d'extraits incapables de dévier le complément par elles-mêmes sont entre 0,08 à 0,1 ou bien entre 0,1 à 0,12, les doses correspondantes des sérums sont entre

50 Fixation du complément par les extraits à l'aide du sérum immunisé.

QUANTITÉ D'EXTRAIT dans 1 centimètre cube.	QUANTITÉ DE SÉRUM SPÉCIFIQUE dans 1 centimètre cube.	QUANTITÉ DE COMPLÉMENT	QUANTITÉ DE SÉRUM HÉMOLYTIQUE dans 1 centimètre cube	QUANTITÉ D'ÉMULSION des glob. rouges du boeuf, à 5 p. 100.	RÉSULTATS		
					EXTRAITS DE CULTURES :		
					Fl. Kieff.	Fl. Cracovie.	Fl. Saarbrücken.
0,02	0,03	0,1	0,004	1,0	0	Hém. compl.	Hém. compl.
"	0,02	"	"	"	0	"	"
"	0,01	"	"	"	0	"	"
"	0,0075	"	"	"	Hém. incomp.	"	"
"	0,003	"	"	"	Trace d'hém.	"	"
"	0,03	"	"	"	0	0	0
Le sérum contrôlant d'un lapin non immunisé F.							
0,2	0,075	0,1	0,004	1,0	Hém. compl.	Hém. compl.	Hém. compl.
"	0,03	"	"	"	"	"	"
"	0,075	—	"	"	0	0	0
—	0,575	"	"	"	Hém. compl.	Hém. compl.	Hém. compl.

0,1 à 0,2. Dans toutes mes expériences, je me servais de 0,02 d'extrait, c'est-à-dire d'une dose quatre ou cinq fois plus petite que la dose maximale d'extrait, ne déviant pas le complément. La première dose du sérum, égale toujours à 0,03, était de moitié plus petite que la dose maximale de ce sérum, ne déviant pas le complément (0,1 à 0,2). Je me gardais de prendre des quantités plus élevées d'extraits ou de sérum, de peur que le complément ne devie pas, parce que les albumines se condensent trop dans les mélanges. Les résultats très nets, d'expériences ainsi faites, permettaient de reconnaître l'identité ou la différence, voire même le degré de parenté des diverses cultures dysentériques et paradysentériques. Par exemple, le sérum du lapin, immunisé par le bacille paradysentérique Fl. Cracovie, fixait le complément par extrait de ce bacille et de celui du bacille Fl. Saarbrücken, sans le fixer cependant par les extraits d'autres cultures paradysentériques. Les agglutinogènes des bacilles Fl. Cracovie et Fl. Saarbrücken, sans être parfaitement identiques, présentaient une parenté plus prononcée que celle qui existe entre les bacilles Fl. Cracovie et Fl. Král ou entre Fl. Cracovie et Fl. Kieff et ainsi de suite (voir table d'agglutination).

Le tableau ci-dessous donne les résultats d'autres expériences, exécutées comme les précédentes :

		SÉRUMS DES LAPINS IMMUNISÉS					
		Moscou.	Cracovie.	Kieff.	Varsovie.	Fl. Cracovie.	Fl. Kieff.
Extraits des cultures dysentériques.	Shiga de Král . .	+	+	+	+	0	0
	Moscou	+	+	+	+	0	0
	Cracovie	+	+	+	+	0	0
	Kieff.	+	+	+	+	0	0
	Varsovie	+	+	+	+	0	0
Extraits des cultures paradysentériques.	Flexner de Král .	0	0	0	0	0	0
	Fl. Cracovie . . .	0	0	0	0	+	0
	Fl. Kieff.	0	0	0	0	0	+
	Fl. Saarbrücken .	0	0	0	0	+	0
	Fl. Varsovie I. .	0	0	0	0	0	0
	Fl. Varsovie II. .	0	0	0	0	—	0
	B. Coli	0	0	—	0	0	0

+, veut dire que l'hémolyse était fortement enrayée, comme dans les expériences III ou XVIII; 0, que l'hémolyse était parfaite dans toutes les épreuves; —, que l'épreuve n'était pas exécutée.

Le sérum de deux lapins, immunisés exclusivement par des injections sous-cutanées des cultures paradysentériques Fl. Král et Fl. Saarbrücken, ne fixait pas le complément par les extraits des cultures homologues. Ces lapins ont reçu, durant six semaines, quatre injections sous-cutanées de cultures sur agar.

Moreschi (1) constate qu'on obtient la fixation du complément aussi bien avec les extraits des bactéries qu'avec leur émulsion. En ce qui concerne les bacilles de la dysentérie,

(1) MORESCHI, Ueber den Wert des Komplement ablenkungsverfahren in der bakteriologischen Diagnostik. *Berliner klinische Wochenschrift*, 1906, n° 38, p. 1243; 1907, n° 38, p. 1204.

LEUCHSUND SCHÖNE, Ueber die Verwendbarkeit der Komplemente bindung zur Typhusdiagnose. *Zeitschrift für Hygiene und Infektionskrankheiten*, 1908, Bd LX, p. 149.

l'expérience suivante démontre que, dans ce but, les extraits conviennent mieux que les émulsions.

Exp. XV et XXI. — Sérum du lapin ayant reçu depuis le 2 janvier jusqu'au 18 mars 1908 en injections sous-cutanées, intrapéritonéales et intraveineuses un total de 9 cultures de bacille paradysentérique Fl. Cracovie.

1 ^o D. M. S. du sérum hémolytique	0,002
2 ^o D. min. non abs. S	0,1 — 0,2
3 ^o D. min. non abs. d'extrait	0,1 — 0,12
4 ^o D. min. non abs. d'émulsion	0,1 — 0,25

QUANTITÉ D'EXTRAIT de la culture Fl. Cracovie dans 1 cent. cube.	QUANTITÉ D'ÉMULSION de la culture Fl. Cracovie dans 1 cent. cube.	QUANTITÉ de sérum spécifique, dans 1 cent. cube.	QUANTITÉ de complément		QUANTITÉ de sérum hémolytique dans 1 cent. cube.	QUANTITÉ D'ÉMULSION des gl. rouges du bœuf à 5 p. 100.	RÉSULTATS	
							Extrait de la culture Fl. Cracovie.	Emulsion de la culture Fl. Cracovie.
0,02	0,05	0,05	0,1		0,004	1,0	0	Hém. compl.
»	»	0,02	»		»	»	0	»
»	»	0,01	»		»	»	0	»
»	»	0,0075	»	Une heure à la tempér. de 37° cent.	»	»	Hém. incomp.	»
»	»	0,005	»		»	»	Traces d'hém.	»

La quantité d'extrait 0,02 était 3 à 6 fois plus petite que la dose, qui ne devait pas par elle-même le complément. La quantité d'émulsion 0,05 était deux à cinq fois plus petite que cette dose (0,1—0,25). Les mêmes doses du sérum spécifique fixaient fortement le complément à l'extrait sans le fixer par l'émulsion.

En généralisant les résultats de mes expériences, je ferai remarquer qu'elles démontrent l'identité de toutes les cultures du bacille dysentérique et l'existence de nombreuses variétés de cultures paradysentériques. Elles ont été exécutées d'après la méthode ci-dessus, n'ont révélé aucune parenté entre les bacilles dysentériques et paradysentériques. Les expériences d'agglutination sur les sérums des lapins immunisés prouvent aussi que cette parenté n'est que très éloignée.

Le bacille dysentérique se distingue, on le sait, par une virulence prononcée par rapport aux lapins et par la faculté de produire une toxine ayant tous les caractères d'une vraie toxine soluble. Les corps de ces bacilles et leur toxine font

naître, chez le lapin, le tableau caractéristique de la maladie et les altérations dysentériques dans le cæcum. Par contre, les bacilles paradysentériques ne produisent pas de ces altérations chez les lapins et sont, en général, peu virulents pour ces animaux. Cependant on les a retrouvés dans les matières fécales des malades atteints de dysenterie, là où les bacilles dysentériques proprement dits faisaient défaut, et le sérum de ces malades agglutinait les bacilles paradysentériques; — on doit en conclure que ces bacilles peuvent, eux aussi, provoquer la maladie. Les sérums des lapins immunisés par les corps bactériens du bacille dysentérique, contiennent l'antitoxine, qui neutralise la toxine de ce bacille. Quant au sérum des lapins immunisés par les bacilles paradysentériques, il ne contient pas cette antitoxine, ce que montre l'expérience suivante :

Lapin 1. Depuis le 26 juin jusqu'au 9 août 1907, on a fait six injections sous-cutanées de l'émulsion des cultures paradysentériques Fl. Saarbrücken sur agar. Le lapin reçut sous la peau un total de 6 cultures.

Lapin 2, fut immunisé simultanément et de la même manière que le 1, par le bacille parad. Fl. Král.

Lapin 3, immunisé en même temps que les précédents par des cultures sur agar du bacille dysentérique Kieff. Il en a reçu trois, dont une sous la peau.

Le 19 août, j'ai fait des saignées, et j'ai mélangé les sérums recueillis chez ces lapins dans la proportion de 0,5 cent. cubes a. 5 D.M.D. de toxine de bacille dysentérique Varsovie. J'ai injecté ces mélanges dans les veines des lapins.

Lapin 1 a) 5 D.M.L. de toxine + 0,5 cent. cubes de sérum du lapin 1 (Fl. Saarbrücken) succomba le lendemain. Lapin 2 a) 5 D.M.L. de toxine + 0,5 cent. cubes de sérum du lapin 2 (Fl. Král); ce lapin succomba pendant la nuit. Lapin 3 a) 5 D.M.L. de toxine + 0,5 cent. cubes de sérum du lapin 3, (Kieff), supporta sans tomber malade. Le lapin de contrôle, 1 D.M.L. de toxine, succomba après quatre jours.

Kraus et Doerr (1) ont obtenu des résultats analogues avec le sérum des chèvres immunisées. Ces auteurs ont, de plus, démontré que le sérum des chevaux immunisés par le bacille paradysentérique n'a pas de propriétés thérapeutiques ni préservatrices, dans l'infection expérimentale des souris par une culture vivante (non pas la toxine) du bacille dysentérique.

Jusqu'ici, autant que je sache, on ne trouve rien dans la

(1) KRAUS und DOERR, Die experimentelle Grundlage einer antiloxischen Therapie der bacillären Ruhr. *Zeitschrift für Hygiene und Infektionskrankheiten*, 1906, Bd LV, p. 33 et 34.

littérature qui permette de savoir si les bacilles dysentérique et paradysentérique provoquent, chez l'homme, des altérations anatomo-pathologiques parfaitement identiques, et si les bacilles paradysentériques, comme les dysentériques, ne se trouvent que dans le gros intestin ou bien s'ils pénètrent dans d'autres organes. Amako (1) fit l'autopsie et l'examen bactériologique de neuf cadavres d'hommes, morts de dysentérie, mais il n'a pas indiqué quels étaient les cas provoqués par le bacille dysentérique ni ceux provoqués par le *b. paradysentérique*. L'auteur n'a trouvé de bacille dysentérique ni dans le sang, ni dans la rate, ni dans le foie et la vésicule biliaire.

On range les bacilles dysentériques dans le groupe des *Typhus-Coli*. En effet, les bacilles paradysentériques ont des traits communs avec les bacilles de ce groupe. Quant à la parenté du bacille dysentérique avec le *Typhus Coli*, elle me paraît très éloignée. Je suppose que le bacille dysentérique, d'après toute vraisemblance, doit occuper dans ce groupe une place bien à part. C'est cette place à part par rapport au bacille paradysentérique qui, à mon avis, doit être prise en considération dans nos efforts tendant à obtenir un sérum curatif (2). Shiga, au contraire, dans son travail récent, tend à obtenir un sérum polyvalent curatif pour tous les cas de dysenterie. De ces cinq types de bacilles, l'auteur choisit ceux dont la parenté est la plus proche, les réunit en groupes et se sert de chaque groupe pour immuniser un cheval. Ensuite, en mélangeant les sérums de tous ces chevaux, l'auteur obtient un sérum polyvalent pour tous les cas de dysenterie. Shiga, sous ce rapport, ne fait pas de distinction entre les deux bacilles.

Il me paraît douteux qu'on puisse résoudre ainsi d'une manière catégorique la question de la sérothérapie en dysenterie, en se basant sur les résultats d'études expérimentales faites jusqu'ici. Il existe en effet des cas de maladies, ayant tous les symptômes cliniques de la dysenterie, et dans lesquels on ne trouve pas trace de bacille dysentérique ni paradysentérique. Jusqu'ici ce ne sont que les résultats d'examen bactériologique, dans chaque cas particulier, qui peuvent nous fournir des indi-

(1) AMAKO, Dysenterie epidemien und Bacillentypen. *Zeitschrift f. Hygiene und Infektionskrankheiten*, 1908, Bd LX, H. 1, p. 93.

(2) Shiga, *loc. cit.*

cations relatives à l'emploi du sérum. Une fois que l'analyse a démontré qu'un cas donné est provoqué par exemple par le bacille dysentérique Shiga-Kruse, il n'y a plus lieu d'appliquer le sérum polyvalent, d'autant plus que l'action curative de sérum univalent (Shiga-Kruse) est très prononcée et que l'action du sérum paradysentérique polyvalent, dans la paradysenterie, n'est que peu étudiée jusqu'ici. Le sérum des chevaux immunisés par le bacille dysentérique et sa toxine révèle une action principalement antitoxique. La quantité d'antitoxine peut être rigoureusement déterminée chez les lapins. Kruse (1), il est vrai, est d'avis que l'homme n'est pas sensible à la toxine du bacille dysentérique, toxine qu'il appelle « Kaninchengift ». Si cette affirmation de Kruse était juste, nous ne pourrions attribuer à l'antitoxine du sérum dysentérique aucune action curative chez l'homme atteint de dysenterie due au bacille dysentérique. Il nous semble cependant, qu'il manque jusqu'ici de bases suffisantes pour considérer cet avis de Kruse comme irrécusable.

Je m'arrêterai, en terminant, sur le travail récent de Konrich (2), travail qui pourrait, jusqu'à un certain point, contredire ma manière de voir. L'auteur a cultivé un bacille doué des caractères du bacille paradysentérique Flexner, extrait des matières fécales d'un soldat qui avait eu la dysenterie six mois avant. Ce bacille cependant, dans les épreuves d'agglutination et dans l'infection expérimentale des lapins, se comportait comme le bacille dysentérique. Le bacille de Konrich appartient aux cultures s'agglutinant bien facilement. L'auteur n'a pas examiné son bacille au point de vue de la production de la toxine, et n'a pas fait d'expériences pour démontrer si les lapins immunisés par ce bacille, acquièrent l'immunité par rapport au bacille dysentérique et à sa toxine; il n'a de même pas déterminé l'antitoxine du sérum des lapins immunisés.

Varsovie, 17 octobre 1909. .

(1) KRUSE, RITTERHAUS, KEMP und METZ, *loc. cit.*

(2) KONRICH, Ueber eine isoliert gebliebene Epidemie bacillärer Ruhr in Mitteleuropa und einen dabei gefundenen, zwischen den Typen Shiga-Kruse und Flexner stehenden Bacillus. *Zeitschrift für Hygiene und Infektionskrankheiten*, 1908, Bd LX, p. 281.

LA « PHASE NÉGATIVE » DE WRIGHT

DANS LA VACCINATION ANTITYPHIQUE DES JEUNES LAPINS

par le Dr FREDERICO DE GASPERI.

(Travail du laboratoire de M. le professeur Metchnikoff.)

On sait que l'introduction de bacilles typhiques dans l'organisme des animaux de laboratoire amène une infection mortelle généralisée, mais celle-ci ne présente pas les caractères essentiels de la fièvre typhoïde de l'homme, avec ses lésions du tube digestif; on sait de plus que ces animaux sont susceptibles d'être vaccinés contre cette infection expérimentale.

Les cobayes et les lapins se prêtant facilement à la vaccination antityphique et à la vérification de l'immunité contre l'infection due au bacille d'Eberth, peuvent nous fournir d'utiles renseignements qui contribuent, en même temps que d'autres faits, à nous renseigner exactement sur la valeur des vaccins antityphiques.

De nombreux auteurs ont étudié les modifications biologiques du sérum des animaux et de l'homme, injecté avec les divers antigènes typhiques qui ont été préparés jusqu'ici.

Il résulte de ces travaux que dans l'organisme des vaccinés on décèle, quoique en proportions variables, la présence des différents anticorps défensifs : agglutinine, précipitine, lysine, sensibilisatrice, stimuline, opsonine.

Wright, le premier, s'est attaché à l'étude de ces anticorps. C'est en s'appuyant sur leur présence qu'il a généralisé, dans la suite, l'emploi de la vaccination antityphique chez l'homme.

Pour ce qui nous intéresse particulièrement, nous devons rappeler que, dans la fièvre typhoïde de l'homme, d'après Leishman, les stimulines et, selon Wright, Hektoen, Harrison, Achard et Foix, etc., les opsonines sont augmentées; elles sont spécifiques.

Richardson, Weaver et Tunnicliff, Cevy, etc., semblent accorder peu d'importance à l'évaluation des opsonines en tant que témoins du degré de l'immunité vaccinale.

Sur l'invitation de M. le professeur Melchnikoff, nous avons étudié la vaccination antityphique sur les jeunes lapins, spécialement le pouvoir opsonique de leur sérum sanguin et la phase négative consécutive aux inoculations.

Nos expériences ont porté sur quatre lots de jeunes lapins, composés chacun de trois sujets, dont deux ont été soumis aux inoculations de vaccin antityphique, le troisième étant gardé comme témoin.

Dès le premier jour après la première injection de vaccin, nous avons suivi le cours des propriétés opsoniques chez les deux lapins traités et le témoin normal.

Nous nous sommes servi d'un vaccin préparé par nous-même d'après le procédé de Pfeiffer et Kolle : des cultures de vingt-quatre heures de bacille typhique H, virulent, sur gélose inclinée, furent émulsionnées dans 45 cent. cubes d'eau physiologique; l'émulsion fut chauffée à 60 degrés centigrades, pendant une heure un quart, puis additionnée d'une très faible quantité d'acide phénique, chauffée à nouveau à 60 degrés pendant une demi-heure.

Un centimètre cube de ce vaccin correspond à 2 anses de 2 milligrammes de culture fraîche.

Les lapins ont reçu sous la peau trois doses successives, avec les quantités suivantes : 4 cent. cube la première fois, 2 cent. cubes la deuxième, 3 cent. cubes la troisième, en des temps variables suivant l'apparition et l'élévation du pouvoir et de l'indice opsonique, ainsi que l'on peut s'en rendre compte dans quelques-unes des expériences relatées plus loin.

Nous devons ajouter que nous n'attendions pas, pour inoculer soit la deuxième ou la troisième dose, que la courbe opsonique fléchit spontanément, nous injectons les doses suivantes aussitôt que l'indice opsonique nous paraissait élevé d'une façon notable. Cela dans le but de voir s'il était possible de gagner du temps et d'abréger ainsi la période vaccinale, tout en aboutissant à une immunité solide. Ce fait nous paraît avoir son importance.

Une fois vaccinés, les animaux ont reçu dans le péritoine 7/10 d'une culture et une culture entière de vingt-quatre heures, sur gélose, de bacille typhique H, émulsionnée dans de l'eau physiologique.

Notre bacille typhique était très virulent; 3/10 d'une culture tuaient les cobayes de 350 grammes environ, dans un délai de quatorze à vingt-quatre heures.

Mais de ce que les animaux de laboratoire n'ont qu'une faible réceptivité pour le bacille d'Eberth, il semble difficile de conclure, des effets produits chez eux par la vaccination antityphique, à ceux qu'on peut attendre, chez l'homme, de la même vaccination. L'animal pourra d'autant mieux résister à l'inoculation d'épreuve qu'il est plus facile à immuniser.

C'est pourquoi, à l'aide de la technique nouvelle indiquée par Vincent, nous avons soumis nos lapins vaccinés contre le bacille d'Eberth, ainsi que les témoins, à un mode d'infection tel qu'il amenât, d'une manière constante, la mort des témoins non vaccinés. Ceux-ci ont succombé à une généralisation du bacille typhique dans le sang et les organes, y compris l'intestin. Voici comment nous avons procédé :

Les lapins vaccinés et les témoins recevaient, sous la peau, 5 cent. cubes d'une solution hypertonique à 10 p. 100 de chlorure de sodium et immédiatement après, dans le péritoine, une émulsion de bacilles typhiques dans les doses indiquées ci-dessus (7/10 et 10/10 d'une culture).

Nous avons employé cette même technique pour infecter quatre cobayes; nous avons obtenu les mêmes résultats satisfaisants. Les animaux ont succombé dans un délai de quatorze à vingt-quatre heures, présentant à l'autopsie une péritonite typhique classique; le bacille d'Eberth a été rencontré dans le sang, les organes et le contenu de l'intestin.

*
* *

Nous allons maintenant donner, d'une façon détaillée, deux de nos expériences de vaccination antityphique de jeunes lapins, pratiquées sous le contrôle de la méthode opsonique.

C'est ainsi que nous avons pratiqué l'opsono-réaction suivant la technique indiquée par Wright dans son livre : *Studies on immunisation*, en tenant compte toutefois des remarques faites sur la méthode par Coppelli, c'est-à-dire que nous avons toujours attendu, pour essayer les sérums des animaux vaccinés et des témoins, que six heures se soient écoulées après le prélèvement du sang.

Cette précaution ne nous a pas paru inutile, car, ainsi que Coppelli l'a constaté, le pouvoir opsonique du sérum normal, faible aussitôt après l'extraction, va progressivement et rapidement en augmentant proportionnellement au temps pendant lequel il reste en contact avec le caillot sanguin, et cela jusqu'à la cinquième heure; il demeure invariable jusqu'à la septième et diminue ensuite.

Les leucocytes utilisés étaient toujours empruntés à un animal neuf de la même espèce que les animaux vaccinés. Les émulsions microbiennes étaient, autant que possible, de même concentration. Les tubes de Wright restaient à l'étuve à 37 degrés centigrades, pendant quinze minutes, pour l'accou-

plissement de l'acte phagocytaire; puis ils étaient aussitôt plongés dans de l'eau froide, afin d'arrêter immédiatement ce phénomène biologique.

Pour l'évaluation du pouvoir opsonique et la détermination de l'indice opsonique, nous avons fait le compte des microbes phagocytés par 50 leucocytes.

EXEMPLE : EXPÉRIENCE III

31 août 1911.

Les lapins n° 61 (1.280 grammes) et 62 (1.350 grammes) reçoivent sous la peau chacun 1 cent. cube de vaccin antityphique de Pfeiffer et Kolle; 1 cent. cube de ce vaccin correspond à 2 anses de culture fraîche.

Le lapin n° 1, pesant 1.400 grammes, est gardé comme témoin.

LAPINS			POUVOIR opsonique.	INDICE opsonique.
1^{er} septembre.				
N° 61.	Bactéries,	78 : 50	Polynucléaires =	1,56
N° 62.	—	71 : 50	— =	1,42
N° 1.	—	86 : 50	— =	1,2
2^e septembre.				
N° 61.	Bactéries,	58 : 50	Polynucléaires =	1,46
N° 62.	—	53 : 50	— =	1,06
N° 1.	—	78 : 50	— =	1,56
3^e septembre.				
N° 61.	Bactéries,	96 : 50	Polynucléaires =	1,92
N° 62.	—	85 : 50	— =	1,70
N° 1.	—	148 : 50	— =	2,96
4^e septembre.				
N° 61.	Bactéries,	312 : 50	Polynucléaires =	6,60
N° 62.	—	244 : 50	— =	4,82
N° 1.	—	426 : 50	— =	2,52
5^e septembre.				
N° 61.	Bactéries,	526 : 50	Polynucléaires =	11,24
N° 62.	—	493 : 50	— =	9,86
N° 1.	—	134 : 50	— =	2,68
6^e septembre.				
N° 61.	Bactéries,	469 : 50	Polynucléaires =	2,18
N° 62.	—	403 : 50	— =	2,06
N° 1.	—	415 : 50	— =	2,30
7^e septembre.				
N° 61.	Bactéries,	84 : 50	Polynucléaires =	1,68
N° 62.	—	81 : 50	— =	1,62
N° 1.	—	96 : 50	— =	1,92
8^e septembre.				
N° 61.	Bactéries,	252 : 50	Leucocytes =	5,40
N° 62.	—	234 : 50	— =	4,26
N° 1.	—	78 : 50	— =	1,56

Les lapins nos 61 et 62 reçoivent sous la peau la seconde injection de 2 cent. cubes de vaccin antityphique de Pfeiffer et Kolle.

LAPINS			POUVOIR opsonique.	INDICE opsonique.
9 septembre.				
N° 61.	Bactéries, 414 : 50	Leucocytes	= 8,28	4,86
N° 62.	— 351 : 50	—	= 7,20	4,12
N° 1.	— 85 : 50	—	= 1,70	1 »

Les lapins nos 61 et 62 sont réinjectés une troisième fois sous la peau avec 3 cent. cubes de vaccin antityphique de Pfeiffer et Kolle.

10 septembre.				
N° 61.	Bactéries, 80 : 50	Leucocytes	= 1,60	0,95
N° 62.	— 78 : 50	—	= 1,56	0,92
N° 1.	— 84 : 50	—	= 1,68	1 »

11 septembre.				
N° 61.	Bactéries, 391 : 50	Leucocytes	= 7,82	4,20
N° 62.	— 349 : 50	—	= 6,98	3,75
N° 1.	— 93 : 50	—	= 1,86	1 »

12 septembre.				
N° 61.	Bactéries, 382 : 50	Leucocytes	= 7,64	5,64
N° 62.	— 348 : 50	—	= 6,96	5,14
N° 1.	— 68 : 50	—	= 1,36	1 »

14 septembre.

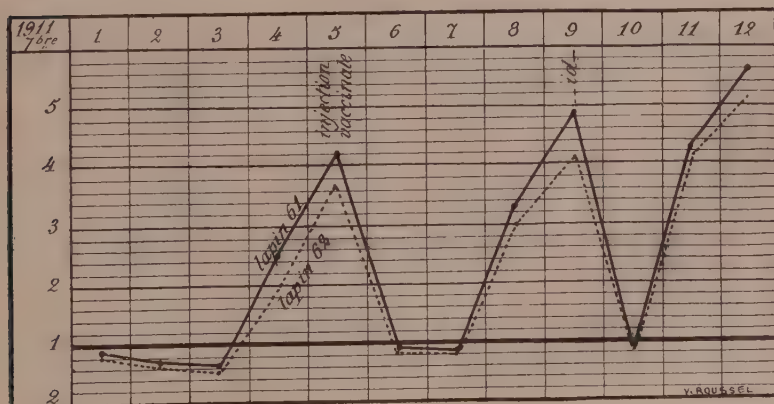
Les lapins nos 61 et 62, ainsi que deux autres lapins normaux de même poids environ que les deux vaccinés, reçoivent d'abord sous la peau 5 cent. cubes de solution hypertonique de Na Cl à 10 p. 100 et immédiatement après, dans le péritoine, 7/10 d'une culture sur gélose, de vingt-quatre heures, de bacille typhique H, délayée dans de l'eau physiologique.

16 septembre.

Le matin à 9 heures les deux lapins témoins sont morts. A l'autopsie, les cavités péritonéales renferment de la sérosité louche et quelques flocons de fibrine; rate, foie et reins tuméfiés, congestionnés; l'intestin grêle est fortement congestionné et contient un liquide séreux sanguinolent.

Le bacille d'Eberth, à l'aide de la gélose de Drigalski, est isolé du sang, des organes et du contenu intestinal.

Les lapins vaccinés ont résisté aux injections d'épreuve.



EXPÉRIENCE IV

17 septembre 1911.

Les lapins n^{os} 63 et 64 (820 et 940 grammes) reçoivent sous la peau 1 cent. cube de vaccin antityphique de Pfeiffer et Kolle. Le lapin n^o 1 (1.200 grammes) est gardé comme témoin.

LAPINS			POUVOIR opsonique.	INDICE opsonique.
18 septembre.				
N ^o 63.	Bactéries,	93 : 50	Polynucléaires =	1,86
N ^o 64.	—	97 : 50	— =	1,94
N ^o 1.	—	108 : 50	— =	2,16
19 septembre.				
N ^o 63.	Bactéries,	82 : 50	Polynucléaires =	1,65
N ^o 64.	—	90 : 50	— =	1,80
N ^o 1.	—	125 : 50	— =	2,50
20 septembre.				
N ^o 63.	Bactéries,	67 : 50	Polynucléaires =	1,34
N ^o 64.	—	72 : 50	— =	1,44
N ^o 1.	—	114 : 50	— =	2,28
21 septembre.				
N ^o 63.	Bactéries,	180 : 50	Leucocytes =	3,60
N ^o 64.	—	226 : 50	— =	4,52
N ^o 1.	—	97 : 50	— =	1,94
22 septembre.				
N ^o 63.	Bactéries,	442 : 50	Leucocytes =	8,84
N ^o 64.	—	512 : 50	— =	10,24
N ^o 1.	—	105 : 50	— =	2,10
Ces mêmes lapins reçoivent sous la peau une seconde dose de vaccin antityphique de Pfeiffer et Kolle, dans la quantité de 2 cent. cubes.				
23 septembre.				
N ^o 63.	Bactéries,	90 : 50	Leucocytes =	1,80
N ^o 64.	—	106 : 50	— =	2,12
N ^o 1.	—	118 : 50	— =	2,36
24 septembre.				
N ^o 63.	Bactéries,	80 : 50	Leucocytes =	1,60
N ^o 64.	—	85 : 50	— =	1,70
N ^o 1.	—	103 : 50	— =	2,06
25 septembre.				
N ^o 63.	Bactéries,	311 : 50	Leucocytes =	6,22
N ^o 64.	—	410 : 50	— =	8,20
N ^o 1.	—	422 : 50	— =	2,44
26 septembre.				
N ^o 63.	Bactéries,	383 : 50	Leucocytes =	7,66
N ^o 64.	—	850 : 50	— =	8,08
N ^o 1.	—	97 : 50	— =	1,94
Nouvelle injection sous la peau : 3 cent. cubes de vaccin antityphique de Pfeiffer et Kolle.				
27 septembre.				
N ^o 63.	Bactéries,	80 : 50	Leucocytes =	1,60
N ^o 64.	—	82 : 50	— =	1,65
N ^o 1.	—	88 : 50	— =	1,74

LAPINS			POUVOIR opsonique.	INDICE opsonique.	
—			—	—	
28 septembre.					
N° 63.	Bactéries,	357 : 50	Leucocytes =	7,14	3,46
N° 64.	—	416 : 50	— =	8,32	4 »
N° 1.	—	103 : 50	— =	2,60	1 »
29 septembre.					
N° 63.	Bactéries,	498 : 50	Leucocytes =	9,96	5,24
N° 64.	—	544 : 50	— =	10,88	5,72
N° 1.	—	95 : 50	— =	1,90	1 »

30 septembre.

Les lapins nos 63 et 64, ainsi que deux lapins normaux du poids de 730 et 800 grammes, reçoivent d'abord sous la peau 6 cent. cubes d'eau salée à 10 p. 100, et aussitôt, dans le péritoine, une culture entière de vingt-quatre heures sur gélose, de bacille typhique H, délayée dans de l'eau physiologique.

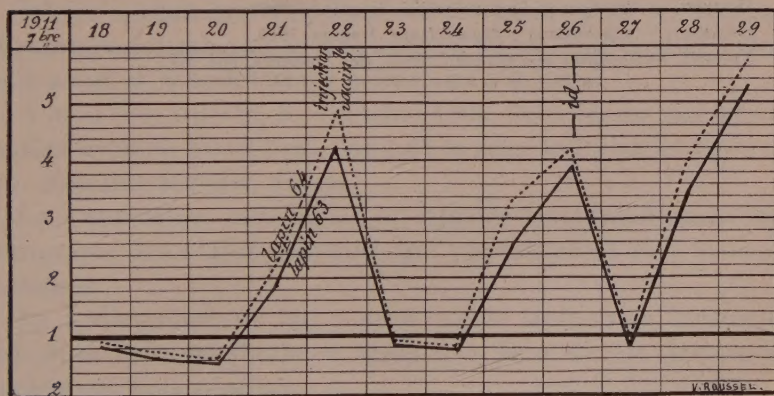
1^{er} octobre.

Dans l'après-midi, un lapin témoin est trouvé mort. A l'autopsie, on rencontre les lésions d'une péritonite grave, à bacille d'Eberth.

Le deuxième témoin est trouvé mort le jour suivant; autopsié, on remarque les lésions anatomo-pathologiques de la septicémie éberthienne.

A l'aide de la gélose de Drigalski, on isole le bacille typhique du sang, des organes et du contenu intestinal de ces deux lapins.

Les lapins vaccinés ont survécu aux injections d'épreuve.



Nos expériences montrent donc que, chez les jeunes lapins (de 750 à 1.000 grammes), l'inoculation sous-cutanée de vaccin antityphique de Pfeiffer et Kolle amène, d'une façon constante, une diminution du pouvoir opsonique (phase négative) de leur sang, toujours suivie par une augmentation rapide et considérable si les doses injectées sont appropriées.

La phase négative qui suit la première injection de vaccin, et qui dure un temps variable, de deux à quatre jours, reparait à l'occasion de la deuxième et de la troisième injection; mais, dans ces deux derniers cas, elle dure moins longtemps et est moins accentuée, ainsi que le montrent les courbes opsoniques que nous donnons plus haut.

Dans la vaccination antityphique des jeunes lapins, le degré du pouvoir opsonique semble être proportionnel au degré de l'immunité par eux acquise.

BIBLIOGRAPHIE

- WRIGHT and DOUGLAS. — *Proceed. of the Royal Soc. London*, 1905, vol. LXXIV.
WRIGHT and DOUGLAS. — *The Lancet*, 1905.
LEISHMAN, HARRISON, SMALEMAN and TULLOCH. — *Journ. of Hyg. Cambridge*, 1905, vol. CCCLXXX.
CHARLES and SIMON. — *Reprint from the Journ. of exper. med.*, 1906.
HEKTOEN and RUEDIGER. — *The Journ. of Infect. diseases*, vol. II, n° 1.
HARRISON (W. S.). — *Journ. of the Royal Army Medical corps*, 1907.
PETIT et BRETON. — *Comptes rendus de la Soc. de Biologie*, 1906.
RICHARDSON (M. W.). — *Am. Journ. Med. Sc.*, 1908, vol. CXXXV.
ACHARD et FOIX. — *Comptes rendus de la Soc. de Biologie*, 1909.
WRIGHT. — *Studies on immunisation*. London, 1909.
COPPELLI. — *Opsonismo e fagocitismo*. Parma, 1910.
VINCENT. — *Comptes rendus de l'Acad. des Sciences*, vol. CL.

NOTE SUR UNE LAPINE NATURELLEMENT RÉFRACTAIRE A LA RAGE

par JULES VIALA,

Préparateur au service antirabique.

M. Pasteur (1) a signalé qu'il existait des chiens résistant, sans préparation, à une sévère inoculation de virus rabique.

Remlinger (2) cite le cas d'un lapin ayant résisté à trois injections de virus fixe dans le cerveau.

Il est extrêmement rare de rencontrer des lapins ne prenant pas la rage à la suite d'une inoculation intra-cranienne de virus rabique. Si, par fortune, on en trouve un qui ne devienne pas rabique après une première inoculation, le plus souvent il contracte la maladie à une deuxième.

Depuis quinze ans que j'inocule des lapins pour les besoins du service antirabique, je n'ai observé qu'un seul animal naturellement et complètement réfractaire à la rage.

Nous avons injecté, le 3 octobre 1909, deux lapins par trépanation avec du virus fixe, l'un prit la rage le 7^e jour et l'autre, qui était une femelle, résista.

Le 3 novembre, cette lapine est injectée de nouveau, en même temps que deux lapins témoins, qui succombèrent dans le délai habituel.

Le 3 décembre, on fait à cette même lapine une troisième injection intra-cérébrale de virus fixe, laquelle est demeurée également sans résultat.

Ayant eu l'occasion d'avoir de la matière cérébrale provenant d'une personne morte de la rage, nous avons éprouvé la résistance de ce lapin au virus humain.

L'inoculation intra-cérébrale est pratiquée le 3 janvier, les

(1) PASTEUR, *Comptes rendus de l'Acad. des sciences*, t. XCVIII, p. 437.

(2) REMLINGER, *Annales de l'Institut Pasteur*, t. XVII, p. 843.

lapins témoins succombèrent à la rage le 25^e jour, et la lapine ne présenta aucun symptôme rabique.

Il nous a paru intéressant de savoir si le sérum de cette lapine neutralisait le virus fixe. Nous avons fait, selon le procédé de A. Marie, un mélange de X gouttes d'émulsion de matière cérébrale d'un lapin ayant succombé au virus fixe et X gouttes de sérum de notre animal réfractaire.

Le lapin inoculé dans le cerveau avec ce mélange n'a présenté aucun symptôme de rage. Un lapin témoin, inoculé de la même façon, avec X gouttes de la même émulsion et X gouttes de sérum normal de lapin, prit la rage le 8^e jour.

Le sérum de cette lapine présentait donc un pouvoir bactéricide évident. Nous avons aussi voulu rechercher si cette immunité était héréditaire.

Pour nous placer dans les meilleures conditions, nous avons mis cette femelle avec le lapin mâle qui avait résisté au mélange de virus sérum.

Le 27 mai, elle donna le jour à sept petits : Nous avons éprouvé, quatre et cinq mois après, ces petits lapins par trépanation avec du virus fixe : tous sans exception prirent la rage dans le délai habituel.

Nous aurions voulu pouvoir continuer les expériences d'hérédité avec cette femelle réfractaire, mais elle succomba au cours d'une seconde grossesse.

Chez cette lapine, l'immunité antirabique était-elle naturelle ou était-elle due à quelque circonstance antérieure inconnue de nous, par exemple morsure à la ferme d'élevage par un chien rabique. Il est impossible de le dire, mais la rencontre d'un lapin réfractaire à la rage est assez rare pour être signalée.

Le Gérant : G. MASSON.

Paris. — L. MARETHEUX, imprimeur, 1, rue Cassette.